

Relazione attività progetto DUALBREEDING

La conservazione della biodiversità è diventata da tempo una priorità della politica agricola europea e riveste un ruolo centrale nelle attività che tutti i Paesi stanno attuando per la programmazione dei piani di sviluppo rurale. Secondo l'ultimo rapporto sullo stato delle Risorse genetiche animali del mondo (FAO, 2016) oltre il 17% delle specie animali domestiche sono a rischio d'estinzione mentre di oltre il 58% non si hanno informazioni a causa della mancanza di dati sulle dimensioni e sulla strutturazione delle popolazioni. In Italia un numero consistente di razze è considerato autoctono avendo origine e peculiarità sviluppate solo nel territorio italiano.

Il DBP, finalizzato a perseguire gli obiettivi individuati dalla sottomisura 10.2, vede coinvolte 16 razze (tabella 1), di cui 6 sono iscritte in Libri Genealogici e 10 in Registri Anagrafici (RAB), le quali presentano storie selettive, consistenze, attitudini produttive e sono allevate in contesti ambientali ed economico-produttivi alquanto diversificati. Delle 16 razze 14 sono considerate minacciate di abbandono; a queste si devono aggiungere le varianti della razza Valdostana Castana e Pezzata Nera.

Tabella 1: Le razze coinvolte nel DBP (fonte A.I.A e Associazioni competenti per ciascuna razza).

Razza	Gestione	Competenza L.G./R.A.	Bovine (1)	Aziende (1)	Capi (2)	Aziende (2)	Cons. F (3)
Pezzata Rossa Italiana	Lib. Gen.	ANAPRI	64.544	5.163	97.584	5.878	1,3
Valdostana PR, PN(*), Castana (*)	Lib. Gen.	ANABORAVA	19.500	1.322	35.880	1.038	2,7-1,5-2,2
Grigio Alpina (*)	Lib. Gen.	ANAGA	7.930	1.258	16.396	1.681	2,2
Rendena(*)	Lib. Gen.	ANARE	3.985	199	6.239	221	5,5
Reggiana(*)	Lib. Gen.	ANABORARE	2.408	145	3.604	150	3,7
Pinzgauer(*)	Lib. Gen.	AIA	1.308	222	1.728	255	2,9
Modicana(*)	Reg. Anag.	AIA	1.825	147	5.931	334	2,2
Cinisara(*)	Reg. Anag.	AIA	1.638	134	4.663	195	3,0
Pezzata Rossa D'Oropa(*)	Reg. Anag.	AIA	2.039	120	6.289	205	3,9
Pustertaler Sprinzen/Barà(*)	Reg. Anag.	AIA	286	43	5.491	325	3,7
Modenese/Bianca Val Padana(*)	Reg. Anag.	AIA	451	40	1.035	46	2,3
Burlina(*)	Reg. Anag.	AIA	426	23	733	31	3,6
Agerolese(*)	Reg. Anag.	AIA	166	34	294	45	1,0
Cabannina(*)	Reg. Anag.	AIA	100	17	350	53	2,9
Varzese-Ottone-Tortonese(*)	Reg. Anag.	AIA	34	5	384	43	2,6
Garfagnina(*)	Reg. Anag.	AIA	0	0	152	23	1,0

(1) Statistiche ufficiali prodotte dall'Associazione Italiana Allevatori (A.I.A.) per l'anno 2015. Vacche e aziende controllate per la produzione di latte
 (2) Consistenza complessiva della razza definita sulla base dei capi vivi iscritti al Libro Genealogico/ Registro Anagrafico al 31/12/2015. La statistica conta anche le bovine iscritte alla linea carne.

(3) Livello medio di consanguineità della popolazione femminile attiva.

(*) razza minacciata di abbandono (allegato 4 avviso pubblico)

Nel complesso il DBP ha toccato tutti i punti definiti come prioritari dalla sottomisura 10.2 vedi benessere animale, impatto ambientale, resistenza alle malattie, biodiversità. In particolare sono state portate avanti 10 azioni diverse finalizzate a perseguire gli obiettivi del progetto, obiettivi che sono in linea con quanto richiesto dalla sottomisura 10.2.

Descrizione del progetto suddivisa per azioni

1. Caratterizzazione fenotipica delle razze e delle specie autoctone

La caratterizzazione fenotipica ha riguardato tutte le razze eccezion fatta per la P.R.I. in quanto razza ad ampia diffusione. Per ciascuna razza si è definita una specifica scheda di rilevazione dei dati, mentre per le razze RAB e per la Pinzgauer si è definito un unico protocollo di raccolta dei dati. A tal proposito si è proceduto definendo un elenco di caratteri da rilevare, creando un manuale di rilevazione e sviluppando un software per la rilevazione dei dati e per l'archiviazione degli stessi. Periodicamente i dati raccolti sono stati oggetto di analisi statistica. In tabella 2 è riportato, per ciascuna razza, il numero di capi caratterizzati fenotipicamente.

Tabella 2: Attività di caratterizzazione fenotipica delle razze coinvolte nel DBP (aggiornato a maggio 2020).

Razza	Competenza	Bovine
Pezzata Rossa Italiana	ANAPRI	Non prevista
Valdostana PR, PN, Castana	ANABORAVA	9.783
Grigio Alpina	ANAGA	4.522
Rendena	ANARE	1.322
Reggiana	ANABORARE	1.190
Pinzgauer	ANAPRI	653
Modicana	ANAPRI	876
Cinisara	ANAPRI	862
Pezzata Rossa D'Oropa	ANABORAVA	907
Pustertaler Sprinzen/Barà	ANAGA	567
Modenese/Bianca Val Padana	ANABORARE	306
Burlina	ANARE	353
Agerolese	ANARE	36
Cabannina	ANARE	66
Varzese-Ottonese-Tortonese	ANABORARE	36
Garfagnina	ANAGA	50

2. Caratterizzazione genetica delle razze e delle specie autoctone ed allevate in Italia

La diffusione della tecnica d'analisi genomica ha aperto uno scenario impensabile fino a pochi anni fa, offrendo un nuovo importante strumento; questo può essere utilizzato non solo per la valutazione genomica per caratteri di interesse selettivo, ma anche per studi finalizzati a caratterizzare geneticamente una popolazione/razza, fornendo ulteriori possibilità all'attuazione di programmi mirati al monitoraggio e gestione della variabilità genetica e della problematica relativa alla diffusione delle tare genetiche.

Per ciascuna razza si sono definiti i criteri di individuazione dei soggetti da genotipizzare con lo scopo di consentire la raccolta di un campione rappresentativo della popolazione esistente. Per alcune razze si è proseguito anche alla genotipizzazione di soggetti maschi di cui era stoccato del materiale genetico nella banca seme. In tabella 3 sono riportati per ciascuna razza il numero di capi genotipizzati. Per la caratterizzazione genetica delle razze di interesse sono stati utilizzati diversi chip: GeneSeek Genomic Profiler™ Bovine HDv3 (150K), GeneSeek Genomic Profiler™ Bovine LDv4 (33K), GeneSeek Genomic Profiler™ Bovine LDv2 (26K), 54k DEA CUSTOM V2 (54k) per quest'ultimo trattasi di un chip custom sviluppato specificatamente per la popolazione Simmental

Europea di cui fa parte la P.R.I.. Per la genotipizzazione dei soggetti di interesse si è fatto riferimento ai seguenti Laboratori: Agrotis-LGS (Cremona-Italia), Genecontrol (Germania).

Per le associazioni che non disponevano di un database per l'archiviazione dei genotipi si è proceduto all'installazione del software (ILLUBOV) nei server di competenza e alla formazione del personale che andrà ad operare nell'archiviazione dei genotipi. ANAPRI ha iniziato a migrare i genotipi archiviati in ILLUBOV in un nuovo gestionale SNIPPIT sviluppando delle pipeline specifiche per soddisfare le esigenze interne. Questo è dovuto al fatto che l'ammodernamento della piattaforma ILLUBOV non è possibile.

Tabella 3: Attività di caratterizzazione genetica delle razze coinvolte nel DBP (aggiornato a maggio 2020).

Razza	Competenza	N° soggetti genotipizzati	Chip
Pezzata Rossa Italiana	ANAPRI	4.039	26K, 33K, 54K, 150K
Valdostana PR, PN, Castana	ANABORAVA	2.668	33K, 150K
Grigio Alpina	ANAGA	1.032	33K, 150K
Rendena	ANARE	1.300	33K, 150K
Reggiana	ANABORARE	1.822	150K
Pinzgauer	ANAPRI	858	54K, 150K
Modicana	ANAPRI	298	150K
Cinisara	ANAPRI	313	150K
Pezzata Rossa D'Oropa	ANABORAVA	925	33K, 150K
Pustertaler Sprinzen/Barà	ANAGA	343	150K
Modenese/Bianca Val Padana	ANABORARE	348	150K
Burlina	ANARE	92	150K
Agerolese	ANARE	21	150K
Cabannina	ANARE	50	150K
Varzese-Otonnese-Tortonese	ANABORARE	39	150K
Garfagnina	ANAGA	68	150K

4. Stima di indici genetici e genomici, di piani di accoppiamento e gestione riproduttiva in relazione alle nuove finalità.

In tabella 4 è sintetizzata l'attività svolta nell'ambito del presente progetto. Relativamente all'azione 4 si sono sviluppati dei programmi per la gestione dei piani di accoppiamento informazioni che si sono rese disponibili attraverso la consultazione dei siti Istituzionali delle singole Associazioni coinvolte nel progetto. Per quanto riguarda le razze RAB e la Pinzgauer si è optato per un software open source già disponibile chiamato EVA, software che opera secondo il principio dell'OPTIMAL CONTRIBUTION. Relativamente a questo punto si sta sviluppando un interfaccia grafica che consenta un utilizzo semplice da parte di qualsiasi operatore.

Relativamente alla stima di indici genetici inerenti il benessere animale, l'impatto ambientale e la longevità degli animali la tabella 4 sintetizza i nuovi indici genetici disponibili per ciascuna razza. Nel caso delle razze RAB e della Pinzgauer, come previsto dal progetto, non si sono prodotti indici specifici.

Tabella 4: Attività di caratterizzazione genetica delle razze coinvolte nel DBP (aggiornato a maggio 2020).

Razza	Competenza	Piano Accoppiamento SOFTWARE	Indici genetici sviluppati
Pezzata Rossa Italiana	ANAPRI	PRIPAC	Fertilità, Longevità, Persistenza
Valdostana PR, PN, Castana	ANABORAVA	Accoppiamenti Programmati	Fertilità e Cellule
Grigio Alpina	ANAGA	Piani OCS	Fertilità (da approvare CTC), Cellule
Rendena	ANARE	Software EVA	Cellule
Reggiana	ANABORARE	Software EVA	Fertilità e Cellule
Pinzgauer	ANAPRI	Software EVA	Non previsti dal progetto
Modicana	ANAPRI	Software EVA	Non previsti dal progetto
Cinisara	ANAPRI	Software EVA	Non previsti dal progetto
Pezzata Rossa D'Oropa	ANABORAVA	Software EVA	Non previsti dal progetto
Pustertaler Sprinzen/Barà	ANAGA	Software EVA	Non previsti dal progetto
Modenese/Bianca Val Padana	ANABORARE	Software EVA	Non previsti dal progetto
Burlina	ANARE	Software EVA	Non previsti dal progetto
Agerolese	ANARE	Software EVA	Non previsti dal progetto
Cabannina	ANARE	Software EVA	Non previsti dal progetto
Varzese-Ottoneese-Tortonese	ANABORARE	Software EVA	Non previsti dal progetto
Garfagnina	ANAGA	Software EVA	Non previsti dal progetto

6. Monitoraggio della diversità genetica nelle razze autoctone italiane e relativa valutazione.

Premessa: La disponibilità di un numero consistente di genotipi, scelti con i criteri previsti dall'azione 2, abbinata alla condivisione di genotipi di razze diverse, consentirà di disporre delle informazioni necessarie per l'attuazione di questa azione finalizzata al monitoraggio della diversità genetica. La caratterizzazione e differenziazione delle razze non ha scopi meramente di ricerca o di monitoraggio della variabilità genetica, ma offre un importante strumento per poter poi, in ultima analisi, differenziare non solo gli animali ma soprattutto i prodotti (carne, latte e derivati) che da essi si possono ottenere. Le analisi effettuate sono le seguenti:

Analisi Runs of Homozygosity (ROH). L'analisi delle ROH consente la stima del livello di eterozigotità in popolazione. Le ROH sono dei segmenti in cui si susseguono in maniera ininterrotta dei genotipi omozigoti; vengono considerate come degli indicatori di inbreeding genomico i cui valori verranno confrontati con il coefficiente di inbreeding calcolato sulla base del solo pedigree, coefficiente che solitamente sottostima il reale livello di consanguineità. L'analisi della distribuzione delle ROH e degli SNP che sono inclusi con elevata frequenza nelle ROH permette lo studio delle Selection Signatures, regioni del genoma dove si verifica un calo dell'eterozigosi legato alla selezione che tende a fissare l'allele più favorevole.

Tramite il software Zanardi (Marras et al., 2015) sono state calcolate le ROH. Tra i parametri più importanti delle ROH vanno ricordate la lunghezza e la loro frequenza all'interno della popolazione. ROH lunghe sono indice di inbreeding (inteso come accoppiamento fra animali parenti) recente nel tempo, mentre ROH più corte indicano fenomeni di inbreeding lontani nel tempo. Lo studio ha riguardato la maggior parte delle razze coinvolte nel progetto si tratta ora di integrare i nuovi genotipi prodotti ed aggiornare i risultati ottenuti. Questi risultati devono essere validati su una base più ampia di informazioni.

Tabella 5. Statistiche descrittive delle ROH.

	N° Medio roh animale	Numero Max Di roh	Media±ds SNP	Max SNP	Media±ds Mb	Max mb
Valdostana PR	72	95	113±124	1480	2.8±3.0	36.5
PRI	60	153	76±51	626	1.9±1.2	15.9
Reggiana	35	84	60±24	204	1.5±0.6	6.3
Modicana	40	123	112±125	1765	2.8±2.9	45.7
Rendena	70	101	154±160	2022	3.7±3.9	50.3
Grigia Alpina	48	74	132±144	1667	3.2±3.4	41.7
Pinzgauer	41	91	148±163	1852	3.6±3.9	47.5
Valdostana PN	66	109	99±108	2192	2.5±2.6	58.3
Burlina	45	83	143±165	2053	3.5±4.0	52.2
Garfagnina	81	151	208±221	2157	5.0±5.4	51.0
Castana	67	109	98±105	1742	2.4±2.5	44.2
Cabannina	42	104	175±230	2736	4.3±5.5	58.6
Agerolese	37	70	161±193	1533	4.0±4.8	35.9
Sprinzen Pustertaller	43	129	141±185	2376	3.4±4.5	59.5
Cinisara	27	163	129±150	2040	3.2±3.5	43.5

Tabella 6. Coefficienti di inbreeding genomico e media, deviazione standard e valore massimo dei coefficienti di inbreeding calcolato con le ROH per alcune delle razze coinvolte.

	Media inbreeding	ds inbreeding	Max Inbreeding
Valdostana PR	7.9	1.5	10.6
PRI	4.6	2.8	15.9
Reggiana	2.1	1	5.6
Modicana	4.4	4.5	21.8
Rendena	10.3	2.4	18.4
Grigia Alpina	6.1	1.6	11.8
Pinzgauer	5.8	2.8	14.4
Valdostana PN	6.4	2.1	16.7
Burlina	6.3	3.7	15.9
Garfagnina	16.3	9.9	36.4
Castana	6.5	1.9	15.9
Cabannina	7.1	6.7	33.4
Agerolese	5.9	3.9	13.9
Sprinzen Pustertaller	5.9	4.7	30.4
Cinisara	3.4	4.2	32.2

Studio della diversità tra le varie razze. Una volta disponibili i genotipi delle singole razze si è operato uno studio finalizzato a valutare le differenze tra di esse. Limitatamente alla PRI tale studio ha interessato anche le altre popolazioni Simmental Europee.

Figura 1: Matrice di parentela genomica tra razze. Nel secondo grafico sono evidenziate le differenze nel cluster centrale.

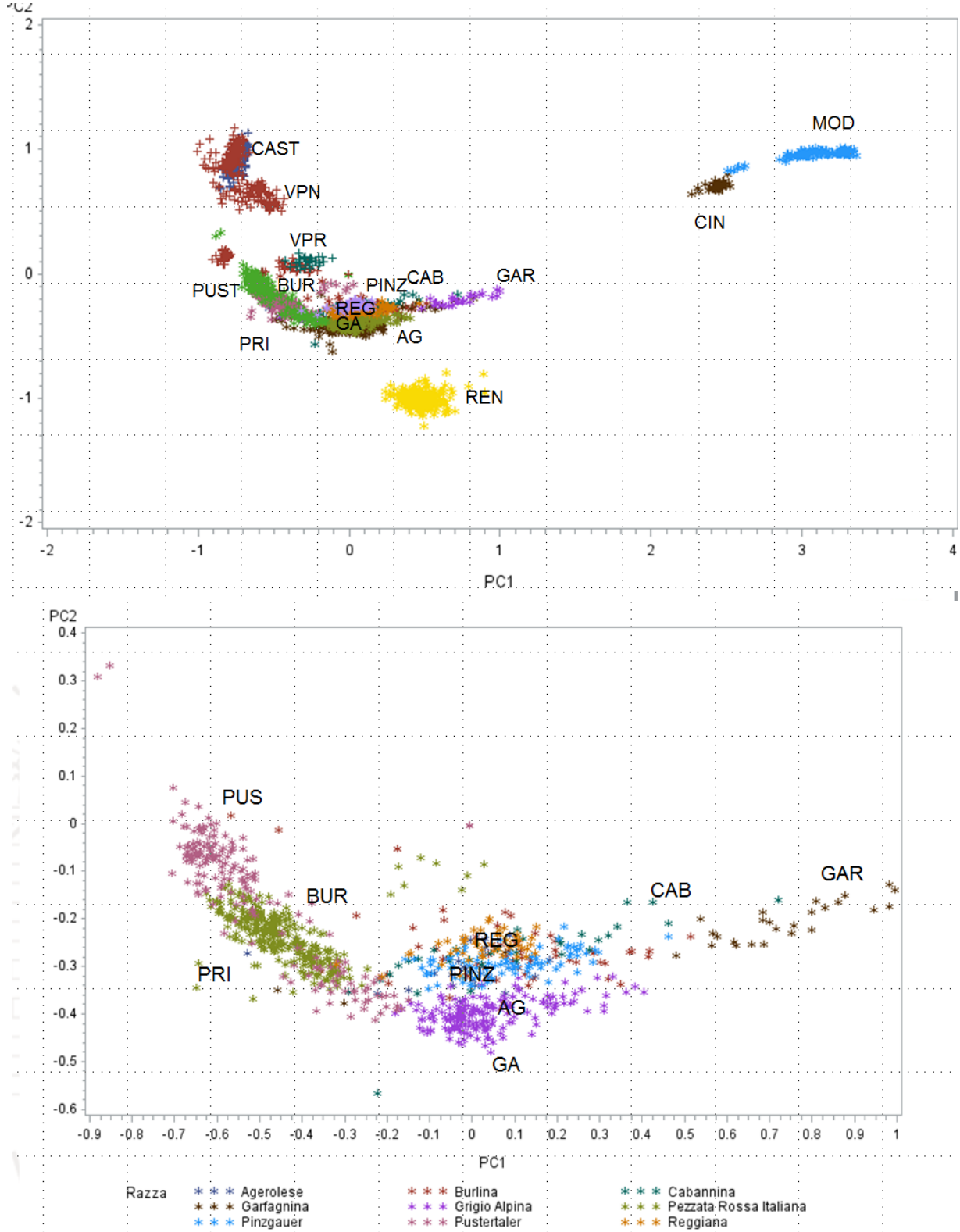
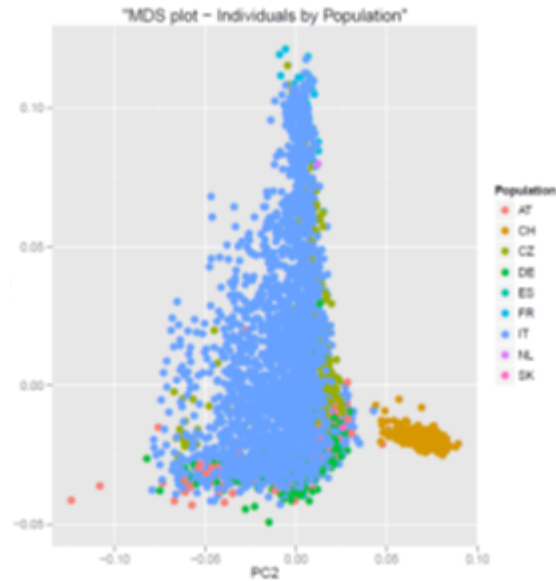
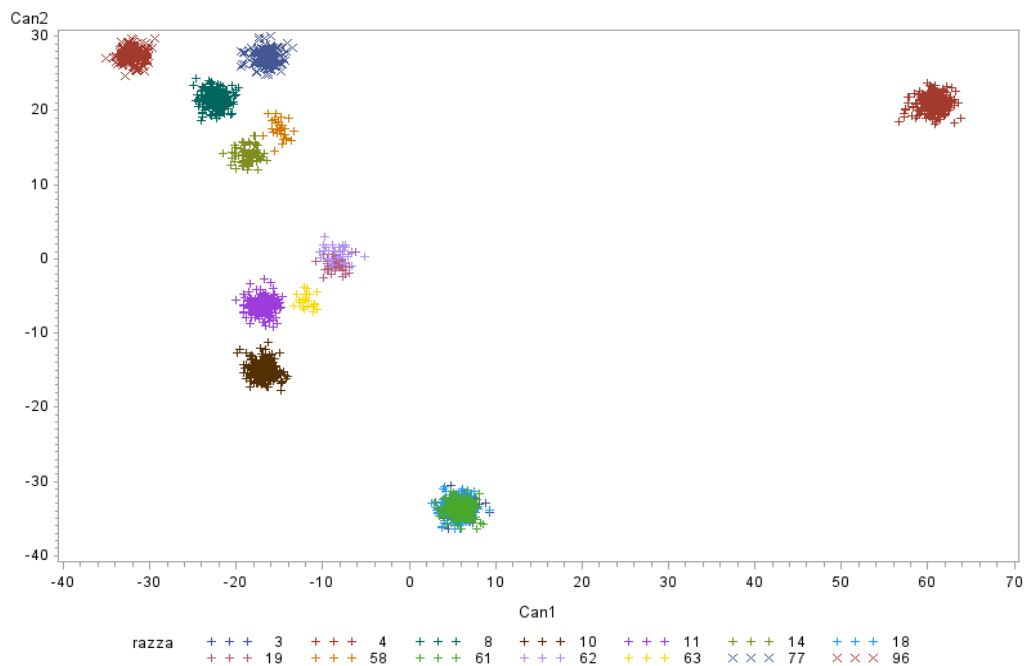


Figura 2: Differenza tra le popolazioni Simmental Europee..



Individuazione di marcatori razza-specifici. E' un elemento fondamentale per lo studio della variabilità genetica che presenta delle implicazioni pratiche di grande importanza, vedi lo sviluppo di protocolli specifici per la tracciabilità dei prodotti mono-razza. Si è prodotto un primo studio in cui si sono individuati degli snp razza specifici. Si tratta ora di ripetere lo studio sulla base dei nuovi genotipi raccolti.

Figura 3: Snp razza specifici.



8. Raccolta di materiale biologico e germoplasma

Premessa. La conservazione di embrioni e seme rappresenta uno dei sistemi migliori per mantenere una risorsa genetica nel tempo oltre che nello spazio. Il progetto prevedeva la produzione di materiale seminale per le razze coinvolte; una quota del materiale seminale prodotto è stato stoccato nella banca seme. In Tabella 6 è riportato il numero di nuovi riproduttori per ciascuna razza. Per alcune razze vi sono stati dei problemi nella raccolta del seme in azienda, derivanti dai requisiti sanitari di non facile soddisfazione (isolamento animali etc), lo stesso dicasi per l'ottenimento da parte Regioni in cui sono presenti

Tabella 7: Produzione di seme e stoccaggio nella banca seme (aggiornato a maggio 2020).

Razza	Competenza	Numero Riproduttori nuovi
Pezzata Rossa Italiana	ANAPRI	52
Valdostana PR, PN, Castana	ANABORAVA	120
Grigio Alpina	ANAGA	41
Rendena	ANARE	51
Reggiana	ANABORARE	24
Pinzgauer	ANAPRI	4
Modicana	ANAPRI	4
Cinisara	ANAPRI	0
Pezzata Rossa D'Oropa	ANABORAVA	9
Pustertaler Sprinzen/Barà	ANAGA	3
Modenese/Bianca Val Padana	ANABORARE	1
Burlina	ANARE	3
Agerolese	ANARE	1
Cabannina	ANARE	0
Varzese-Ottonese-Tortonese	ANABORARE	0
Garfagnina	ANAGA	0