Il progetto DUAL BREEDING
Le 16 razze a duplice attitudine, un patrimonio di biodiversità

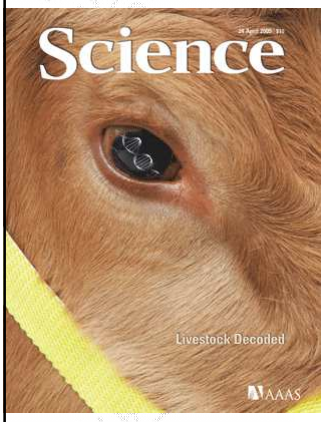
dualbreeding

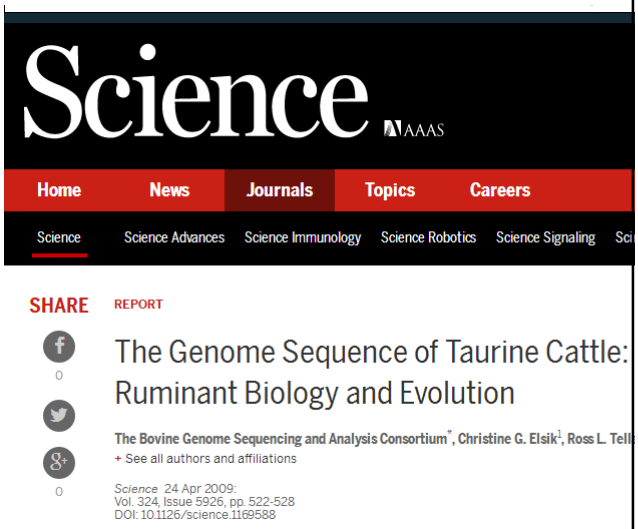
Potenzialità delle informazioni genomiche per le razze locali a duplice attitudine

Nicolò Pietro Paolo Macciotta, Alberto Cesarani, Corrado Dimauro
Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Sassari

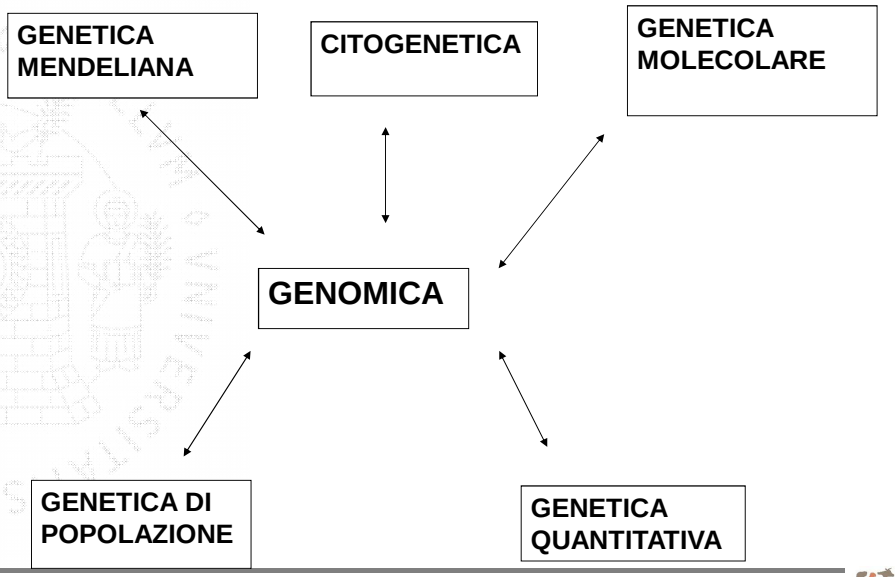
Fieragricola Verona 31/01/2020

La genomica

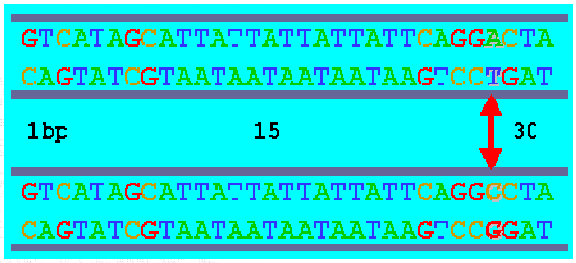




La genomica



Innovazione tecnologica



- **Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)**
- **Piattaforme per la genotipizzazione automatizzata di migliaia di SNP**

La genomica nelle razze a duplice attitudine

- Selezione genomica
- Studio della biodiversità
- Controllo parentela
- Ricerca delle basi genetiche della resilienza
- Caratterizzazione delle produzioni

«Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l'Europa investe nelle zone rurali»

"IL PROGETTO DUAL BREEDING"

Le razze bovine a duplice attitudine: un modello animale alternativo ed eco-sostenibile

6) Monitoraggio della diversità genetica nelle razze bovine a duplice attitudine

Razza	Animali
Agerolese	21
Burlina	60
Cabannina	33
Cinisara	200
Garfagnina	32
Grigio Alpina	181
Modicana	244
Pezzata Rossa Italiana	356
Pinzgauer	85
Pustertaler/Barà	201
Reggiana	48
Rendena	225
Valdostana Castana	231
Valdostana Pezzata Nera	354
Valdostana Pezzata Rossa	32

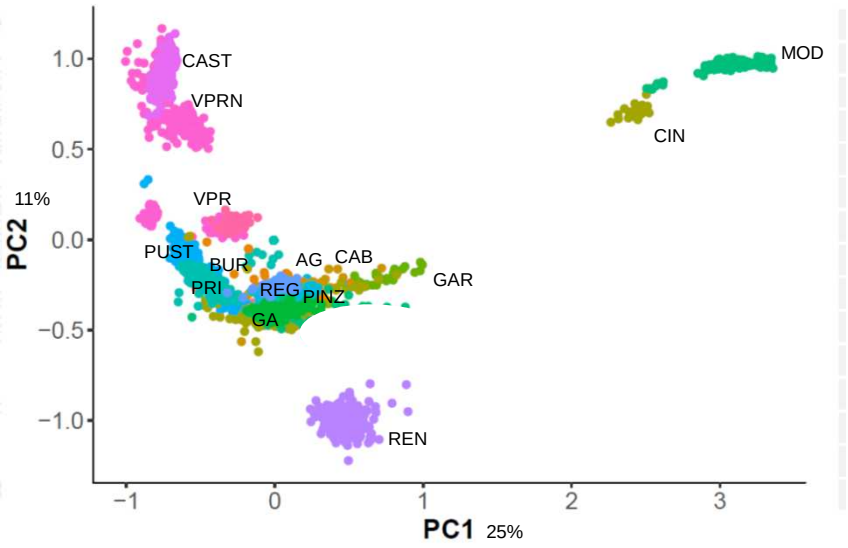
2303 animali
13 razze

Genotipizzazione

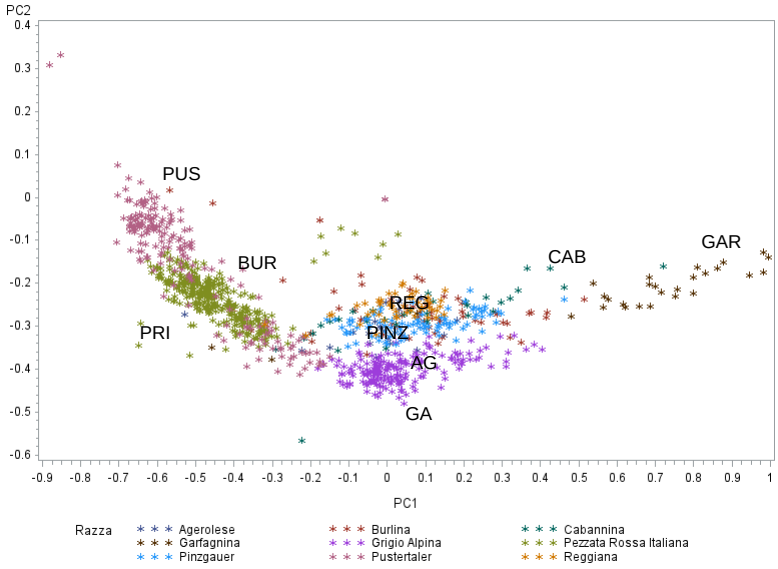
- ✓ chip HD contenente 139,381 marcatori
- ✓ scostamento dall'equilibrio di Hardy-Weinberg
- ✓ frequenza dell'allele minore (0.05)
- ✓ call rate sui marcatori (0.95)
- ✓ call rate sugli animali (0.95)

105,869 SNP

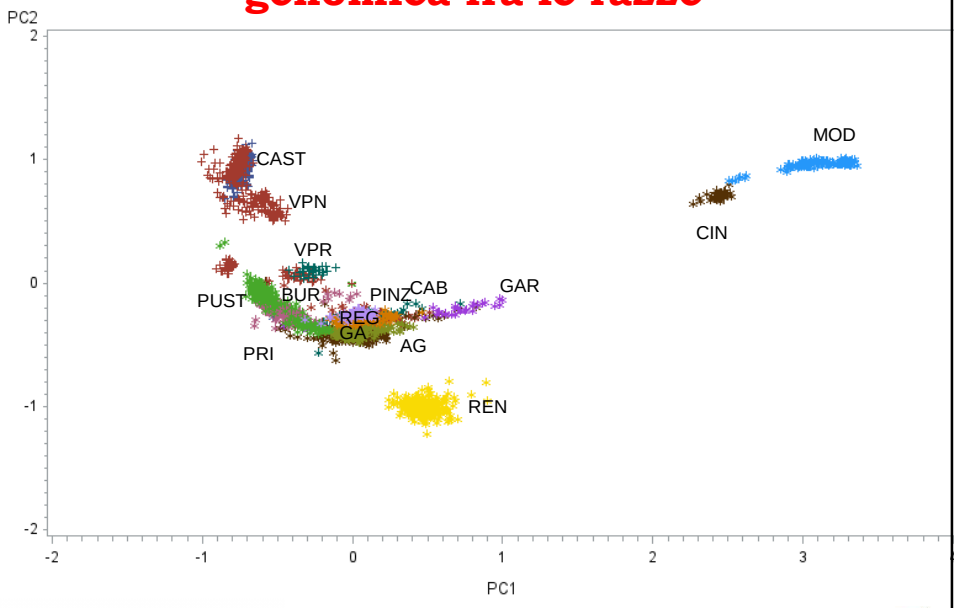
PCA della matrice di parentela genomica fra le razze



Il cluster centrale



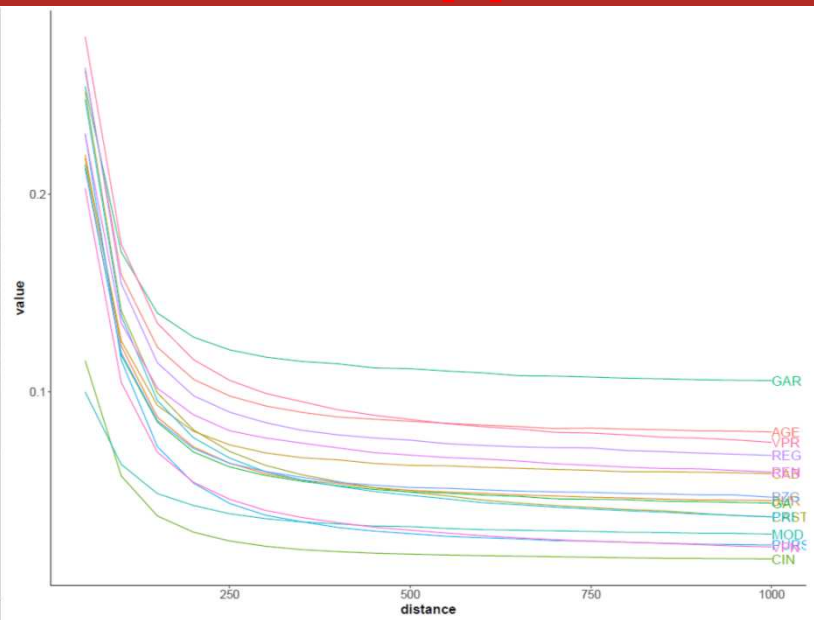
PCA della matrice di parentela genomica fra le razze



Caratteristiche genomiche delle razze

- **Rendena distante dalle altre razze**
- **Cluster delle razze siciliane e valdostane (Castana e Pezzata Nera)**
- **Altre razze più simili**

Le informazioni genomiche ci raccontano la storia evolutiva di una popolazione



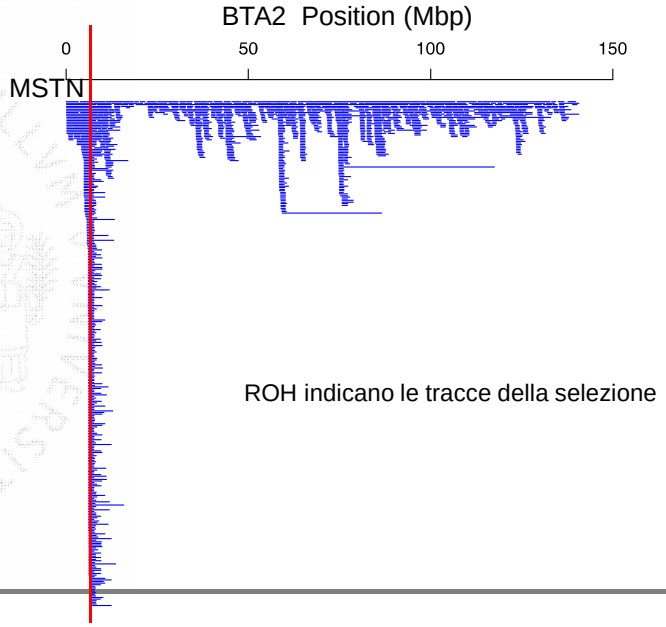
Genomica e inbreeding
Runs of homozygosity (ROH)

- ✓ Serie di genotipi omozigoti senza eterozigoti (Gibson *et al.*, 2006)

Animal 1	AGGATCG AGCTTAGGCAACTGTAGCATGCAT ATCGATGCATATCG ATTGACT AGCTTAGGCAACTGTAGCATGCAT CATCGTAGTTAGCT
Animal 2	AGGATCGAGC TTAGGCAACTGTAGCATGCATATCGAT GCATATCG ATCGTAGCTG TTAGGCAACTGTAGCATGCATATCGAT ATCGATGC
Animal 3	AGGATCGAGCTTAGGCAACTGTAGCATGCATATCGATGCATATCG ATCATCGAGCTTAGGCAACTGTAGCATGCATATCGATGCATATCG

- ✓ Indicatori della cronologia dell'inbreeding
  - ✓ ROH lunghe ➡ inbreeding recente
  - ✓ ROH corte ➡ inbreeding remoto
- ✓ Tracce della selezione

Studio delle tracce della selezione



ROH indicano le tracce della selezione

Genomica e inbreeding
Runs of homozygosity (ROH)

- **Runs of homozygosity calcolate con il software Zanardi :**
  - **15 omozigoti consecutivi**
  - **Lunghezza minima 1 Mb**
  - **no eterozigoti**

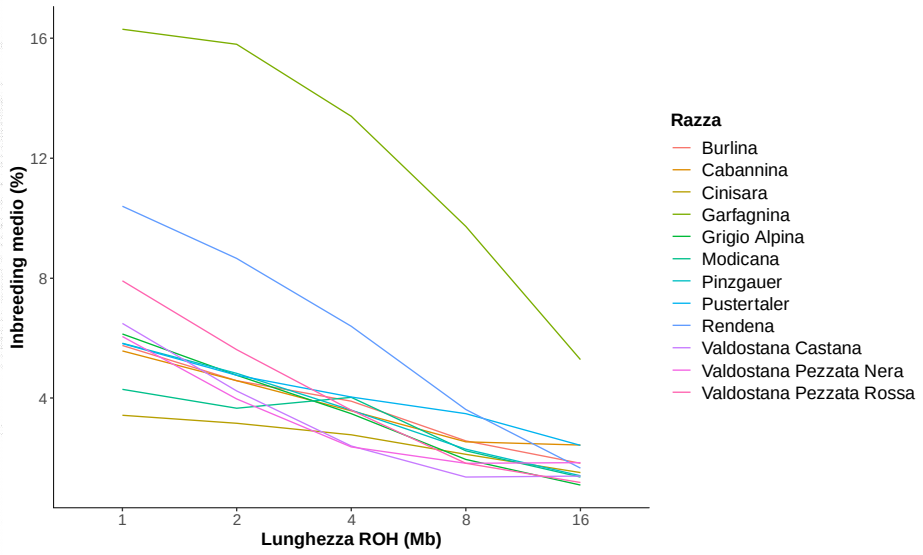
- **Coefficiente di inbreeding basato sulle ROH (F_{ROH})**

$$\textit{somma lunghezza ROH} / \textit{lunghezza del genoma}$$

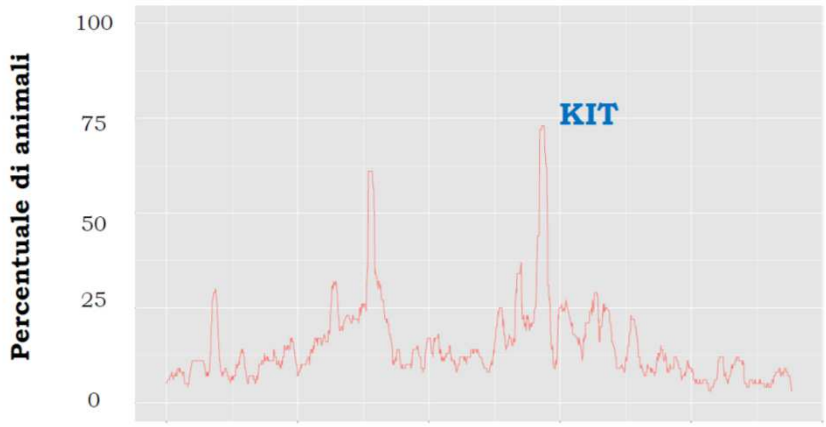
Statistiche delle ROH

	ROH/animale		Lunghezza (SNP)		Lunghezza (Mb)	
Razza	media	max	media±DS	max	media±DS	max
AGE	37.29	70	161±193	1533	3.96±4.76	35.9
BUR	45.43	83	143±165	2053	3.49±4.01	52.22
CAB	42.03	104	175±230	**2736**	4.27±5.49	58.58
CIN	**27.23**	163	129±150	2040	3.16±3.55	43.48
GA	48.17	74	123±144	1667	3.21±3.43	41.68
GAR	**81.47**	151	**208±221**	2157	**5.04±5.38**	51.00
MOD	39.8	123	112±125	1765	2.77±2.94	45.74
PRI	60.4	**153**	**76±51**	**626**	**1.91±1.18**	**15.95**
PUST	42.88	129	141±185	2376	3.44±4.45	**59.55**
PZG	41.19	91	148±163	1852	3.58±3.92	47.47
REG	36.73	**51**	170±193	1752	4.12±4.75	44.22
REN	69.53	101	154±160	2022	3.72±3.89	50.29
VCAS	67.07	109	98±105	1742	2.44±2.5	44.16
VPN	65.92	109	99±108	2192	2.46±2.6	58.31
VPR	71.84	95	113±124	1480	2.78±2.97	36.52

Inbreeding



ROH come trace della selezione: PRI

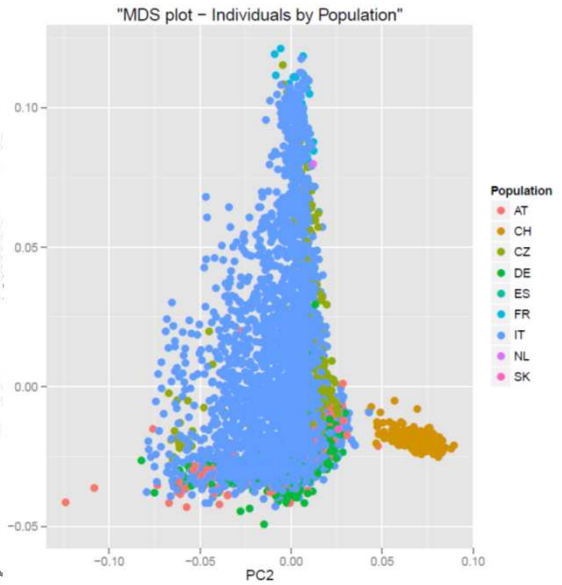


Genomica e analisi delle differenze entro razza: la popolazione Simmental

- ✓ **3,845 tori da 5 paesi:**
  - **Austria (AT, 351)**
  - **Svizzera (CH, 215)**
  - **Repubblica ceca (CZ, 248)**
  - **Germania (DE, 550)**
  - **Italia (IT, 2481)**

uniss
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Le diverse popolazioni Simmental



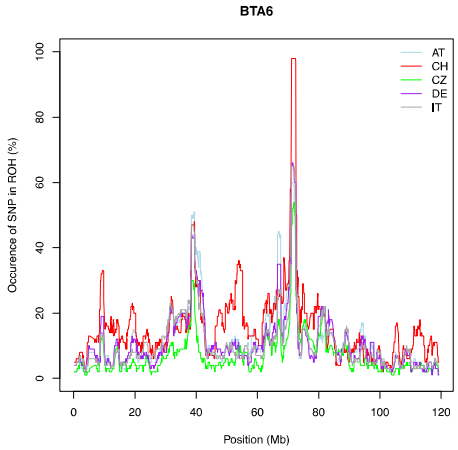
Risultati: caratteristiche delle ROH

		Lughezza media ROH	
Paese	**nROH**	**Mb**	**SNP**
AT	**76.1±14.9**	2.5±3.3	38.65±47.88
CH	**109.9±11.2**	3.0±3.8	45.51±56.93
CZ	**52.2±12.9**	2.3±3.3	34.30±47.24
DE	**77.8±15.1**	2.5±3.5	38.46±47.19
IT	**73.1±14.7**	2.6±3.6	39.12±51.55

77.8±20.7 ROH per animale

uniss
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

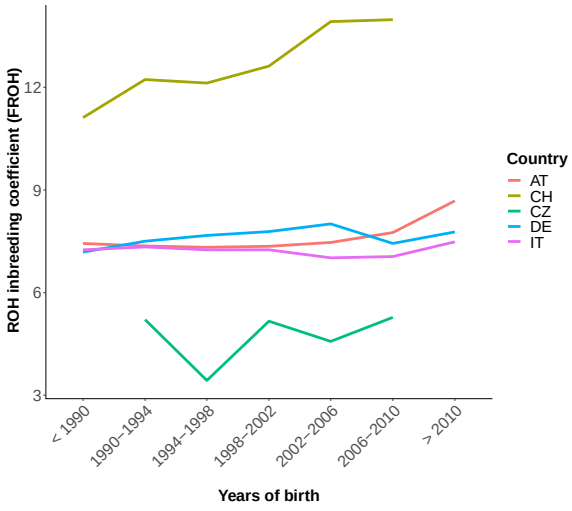
ROH e tracce della selezione



KIT gene
71,796,318-71,917,430

uniss
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Andamento inbreeding genomico nel corso degli anni



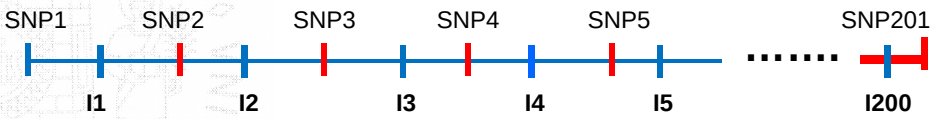
uniss
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Considerazioni

- ✓ L'uso della genomica consente di apprezzare differenze nella gestione genetica delle diverse popolazioni
- ✓ Limitato o nullo utilizzo di tori stranieri in Svizzera
- ✓ Scambi di seme tra Austria, Germania, e Italia
- ✓ La Cecoslovacchia ha una elevata popolazione effettiva ed soggetta ad incorci con alter razze (Red Holstein, Ayrshire, Montebeliard), sino al 1980 animali CZ erano cosiderati come incroci

uniss
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Selezione Genomica



Suddivisione del genoma in intervalli delimitati da marcatori genetici.
L'indice genetico di ciascun animale è la somma degli effetti degli intervalli

dualbreeding

Diagnosi di parentela

- File di Pedigree
- File dei genotipi
- Diagnosi parentela
- Ricerca probabili genitori

```
animali_geno=$(awk '{print $1}' $geno_200 | wc -l)
echo          $animali_geno
echo ""
comando=$(SOFTWARE/./seekparentf90 --pedfile $pedigre --snpfile $geno_200)
echo nohup $comando > $output_diagnosi
echo ""
echo "Analisi finita"
end_time=`date +%H:%M:%S`;
echo "Fine analisi ore: " $end_time;
echo ""
echo "Risultati Seekparentf90 disponibili in " $output_diagnosi
echo ""
#
if [ -f Check_$pedigre ]
then
    echo ""
    echo "Seekparentf90 run OK"
    echo ""
    tori_ok=$(awk '$5=="Match"' Check_$pedigre | wc -l)
    madri_ok=$(awk '$6=="Match"' Check_$pedigre | wc -l)
    echo "Tori verificati: " $tori_ok
    echo "Madri verificate: " $madri_ok
    echo "******************"
    tori_no=$(awk '$5=="No-Match"' Check_$pedigre | wc -l)
    madri_no=$(awk '$6=="No-Match"' Check_$pedigre | wc -l)
    echo "Tori NON verificati: " $tori_no
    echo "Madri NON verificate: " $madri_no
else
    echo "Errore durante esecuzione Seekparentf90"
    echo "Controllare" $output_diagnosi
    exit
fi
#
rm "$pedigre.errors"
```

SCHEMA DELLA SELEZIONE GENOMICA

Popolazione di riferimento

Popolazione di Previsione
validazione

Selezione genomica nella PRI

2009 Progetto SELMOL:
- ✓Genotipizzazione tori nazionali
- ✓Sviluppo procedura di valutazione genomica

2011 Validazione test INTERBULL

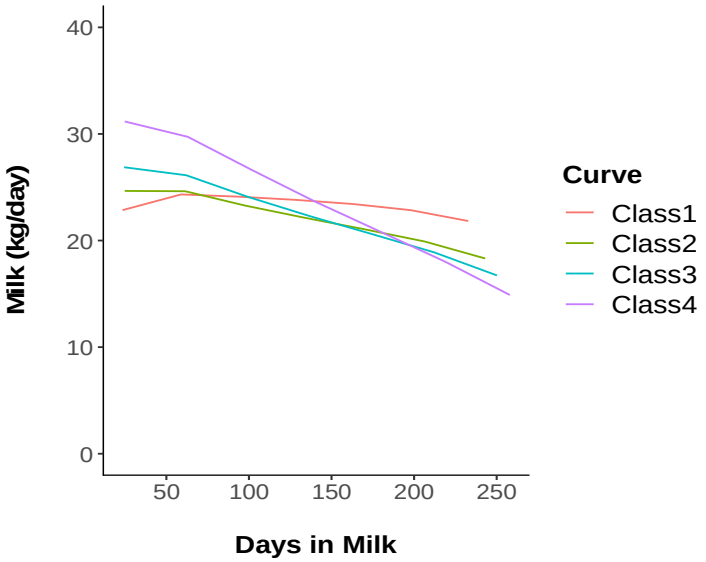
2014 Inizio progetto ONESTEP

2019 Nuovi caratteri

Vantaggi GS verso la selezione tradizionale

Carattere	R^2_{DGV}	R^2_{IP}	DIFF
Latte kg	0.39	0.15	+0.24
Grasso kg	0.40	0.24	+0.15
Proteina kg	0.40	0.20	+0.20
Grasso %	0.25	0.33	-0.08
Proteina %	0.36	0.39	-0.03

Nuovi caratteri: la persistenza di lattazione



Stima dei parametri genetici

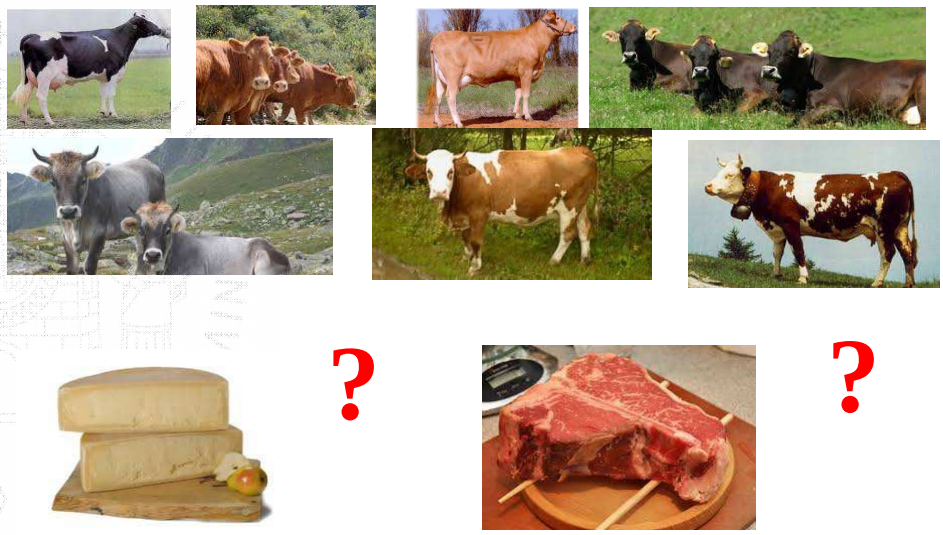
	Interparto	Latte kg	Grasso kg	Proteina kg
Interparto	0.09	0.17	0.15	0.16
Latte kg	0.64	0.26	0.88	0.96
Grasso kg	0.63	0.86	0.25	0.89
Proteina kg	0.56	0.95	0.90	0.22

				Correlazione	
	Ereditabilità	Ripetibilità		Fenotipica	Genetica
Interparto	0.05	0.11		-0.05	0.25
Persistenza	0.11	0.20			

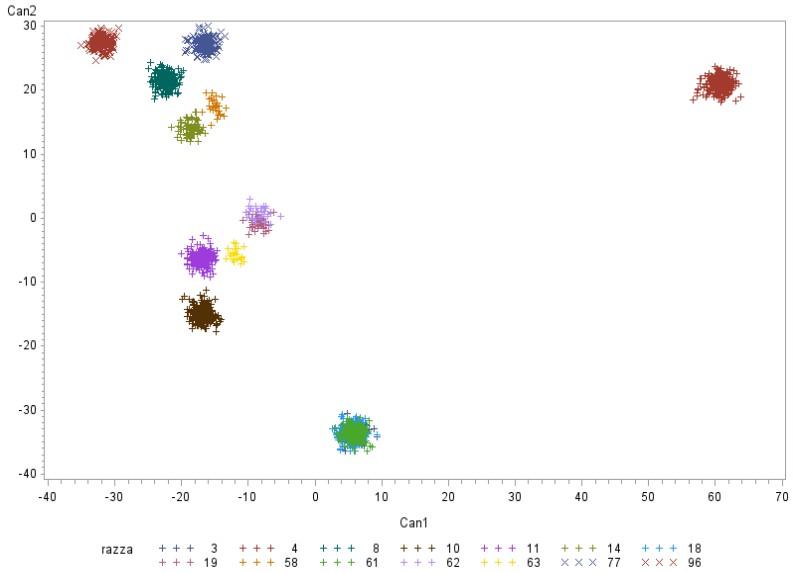
Accuratezze valori genomici

Categoria	Fenotipo	Genotipo	Animali	Media	SD
Vacche	Yes	No	103,239	0.57	0.07
	Yes	Yes	1,693	0.68	0.03
Madri	No	No	69,051	0.42	0.15
	No	Yes	270	0.65	0.06
	Yes	No	50,690	0.61	0.05
	Yes	Yes	767	0.71	0.03
Tori	No	No	6,332	0.49	0.17
	No	Yes	1,458	0.81	0.11

Genomica e qualità :Tracciabilità dei prodotti



Tracciabilità: 1914 SNP, 1,7% assegnazione



Considerazioni finali

Genomica e razze a duplice attitudine

- Fonte importante di informazione
- Studio della variabilità tra ed entro razze
- Controllo parentela
- Gestione genetica delle piccole popolazioni

Considerazioni finali - bis

- Tare genetiche
- Selezione genomica
  - **Fenotipi?**
  - **Nuovi caratteri?**
- Tracciabilità delle produzioni

Considerazioni finali - bis