



AZIONE 9: ELABORAZIONE E GESTIONE DELLE INFORMAZIONI RACCOLTE.

IOV: PUBBLICAZIONE RISULTATI ANALISI GENETICHE E GENOMICHE

Analisi dei dati genealogici

I dati genealogici registrati a partire dall'anno 1943 sono stati analizzati per valutare la robustezza del pedigree e per la ricerca e conseguente correzione di eventuali incongruenze.

La stessa strategia è stata adottata per altre due razze incluse nel progetto, Modenese e Varzese.

Il numero di record genealogici per le razze Reggiana, Modenese e Varzese è, rispettivamente, 48851, 10765, 1856.

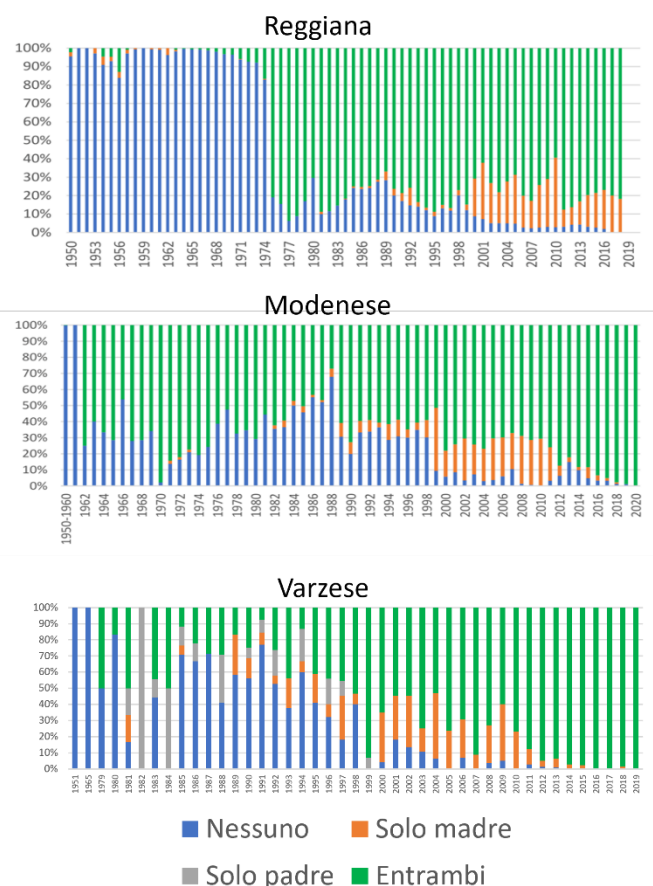
Per quanto riguarda la razza Reggiana, si è osservato che per la maggior parte degli animali, fino agli inizi degli anni '70, almeno uno dei genitori dei soggetti non era registrato. A partire dal 1970, per oltre l'80% degli animali erano registrati correttamente oltre l'80% dei genitori.

Per la razza Modenese, la proporzione di soggetti di cui erano conosciuti i genitori superava in genere il 60% già a partire dal 1962.

Per la Varzese fino all'anno 1999 per quasi la metà dei soggetti della razza si conosceva almeno un genitore, per gli altri nessuno. A partire dall'anno 2000, la proporzione di soggetti con genitori non registrati è inferiore al 5%.

La Figura 1 riporta le proporzioni, anno per anno, dei soggetti con uno, entrambi o nessun genitore registrato, per ogni razza.

Figura 1. Proporzioni di soggetti con genitori registrati



Analisi del livello di consanguineità genomica

La consanguineità è la probabilità che un animale abbia allo stesso locus entrambi gli alleli identici per origine. La consanguineità può essere riferita anche come la frazione di geni omozigoti per discendenza complessivamente presenti nel genoma di un animale.

La consanguineità è espressa tradizionalmente con il coefficiente di consanguineità o di inbreeding (FPED) che viene generalmente calcolato usando i dati di pedigree. Il coefficiente di consanguineità calcolato in questo modo ha diversi limiti. Tra i principali limiti c'è l'impossibilità di calcolare un FPED accurato in mancanza di parenti registrati nel pedigree.

Per questa ragione è importante affiancare al coefficiente FPED uno o più coefficienti calcolati a partire da dati genomici. Grazie ai pannelli SNPchip è possibile calcolare un coefficiente di consanguineità genomica molto preciso. La presenza di regioni di SNP omozigoti (dall'inglese Runs of Homozygosity, abbreviato in ROH) lungo il genoma può infatti indicare che i genitori di un individuo gli abbiano trasmesso informazioni identiche che avevano a loro volta ricevuto da parenti comuni.

Il coefficiente di consanguineità genomica, che riflette il livello di consanguineità dovuto ad incroci tra animali imparentati, è calcolato come la porzione del genoma di un individuo che presenta ROH. Questa porzione può variare da 0 ad 1 e il coefficiente così ottenuto è indicato come FROH.

Diversi tipi di FROH possono essere calcolati considerando ROH più o meno lunghe nella somma. Il coefficiente FROH classico include tutte le ROH con lunghezza maggiore di 1Mbp. Se si considerano ROH lunghe almeno 4Mbp si può calcolare il coefficiente FROH4. Animali con un basso coefficiente FROH4 permettono di escludere recenti episodi di consanguineità.

In continuità dal precedente progetto, ulteriori soggetti di razza Reggiana sono stati analizzati sia per FROH, confermando i risultati di un basso valore globale (media 0.06 ± 0.04) e sono stati affiancati dalle analisi di FROH4, che presenta un valore ancora minore (media 0.047 ± 0.04), indicando che la gestione degli accoppiamenti è riuscita a limitare la consanguineità in tempi recenti.

Nelle figure 2 e 3 sono riportate rispettivamente le distribuzioni di FROH, FROH4 ed FHOM per la razza reggiana. Il coefficiente di consanguineità è riportato sull'asse X, il numero di soggetti con quel coefficiente è riportato sull'asse Y.

Figura 2. Distribuzione dei valori di FROH, calcolato con ROH di lunghezza minima di 1Mbp

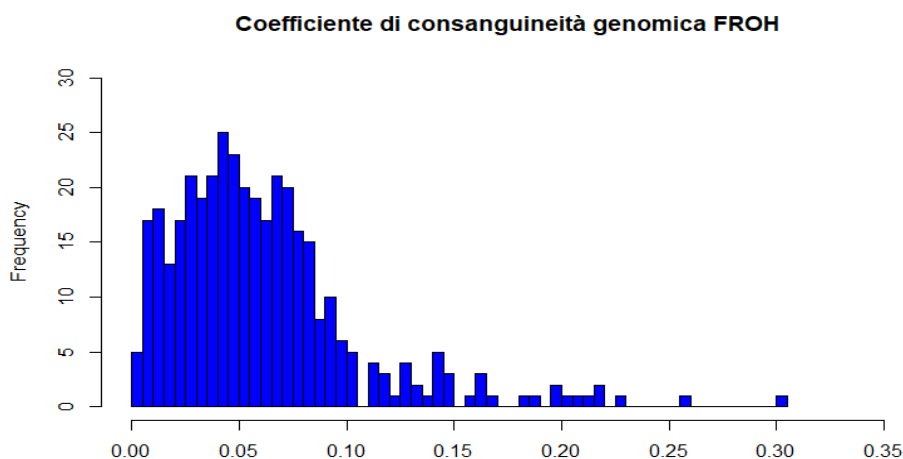
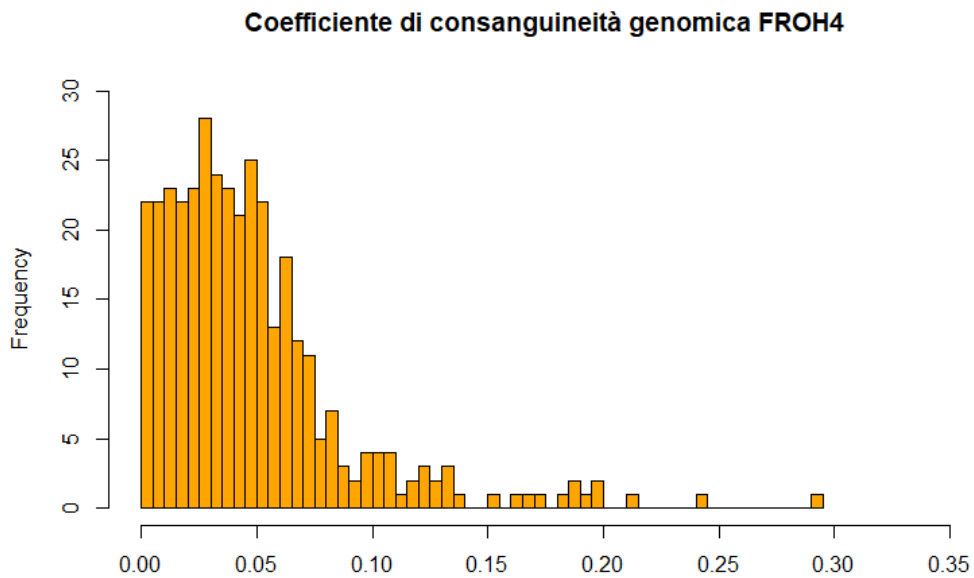
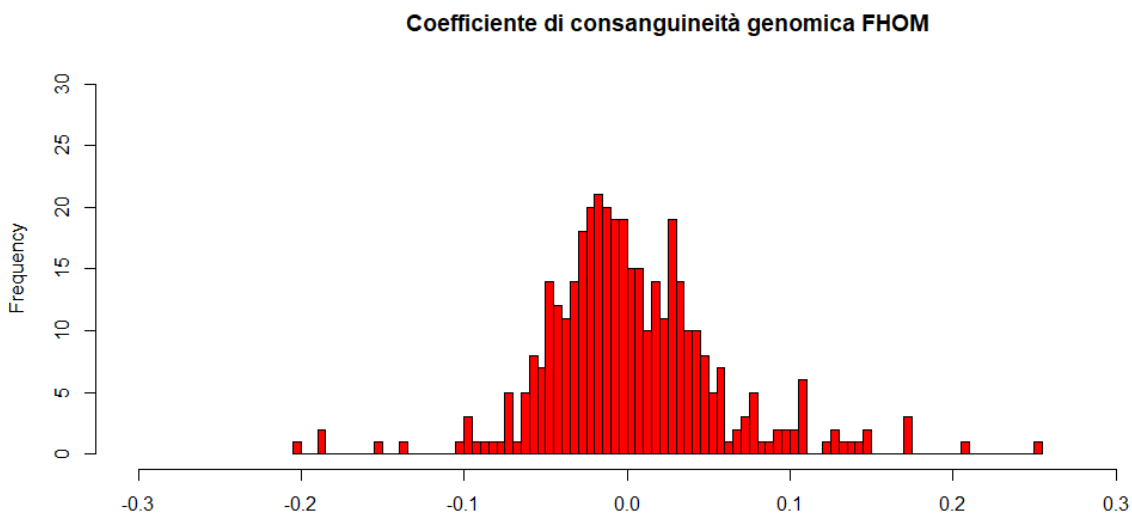


Figura 3. Distribuzione dei valori di FROH4, calcolato con ROH di lunghezza minima di 4Mbp



Un altro parametro che indica il livello di consanguineità in una popolazione è la proporzione di marcatori omozigoti rispetto agli eterozigoti. Questo parametro viene indicato come FHOM. Valori bassi o negativi di FHOM indicano una bassa consanguineità. Nella razza Reggiana il valore medio di FHOM è risultato 0.0023 ± 0.05 . La distribuzione dei valori di FHOM nella razza Reggiana è riportata in Figura 4.

Figura 4. Distribuzione dei valori di FHOM nella razza Reggiana



Marcatori importanti per malattie genetiche

Dalle analisi genomiche, utilizzando il pannello di SNP della Geneseek (HD GGP), è stato possibile recuperare l'informazione vari difetti genetici (DUMPS, HH3, JH1 e citrullinemia caratteristici della razza Frisona; Aracnomelia, caratteristico della razza Bruna; piede di mulo o mulefoot, caratteristico della razza Frisona e di altre razze, CVM, Brachyspina). Questi difetti sono presenti in altre razze come riportato da numerosi studi, ma non sono ad oggi stati riscontrati nella razza Reggiana. L'assenza è stata confermata dal progetto precedente e saranno ulteriormente testati nel corso di Dual Breeding 2.

Dalle analisi genomiche effettuate su 575 bovini di razza Reggiana, è stato possibile ottenere informazioni sulla possibile presenza nella razza di alleli deleteri che causano diverse malattie genetiche.

La Tabella 1 riporta gli SNP analizzati e il numero di animali con genotipo omozigote per un allele o per l'altro ed eterozigoti per ogni SNP. In tabella sono riportati anche gli alleli ed il *p-value* relativo all'Hardy Weinberg Equilibrium (HWE). Un valore < 0.05 di *p-value* indica la possibile presenza alleli deleteri in omozigosi.

Tabella 1. SNP relativi a malattie genetiche. La tabella riporta: SNP (identificativo dello SNP nel chip); A1, A2 (Allele 1, Allele 2); N.Animali con diversi genotipi; p-value HWE; effetto dell'allele deleterio se presente in omozigosi.

SNP	A1	A2	N. ANIMALI CON I DIVERSI GENOTIPI	<i>p-value</i> HWE	Effetto
Arachnomelia-BS	0	D	0/0/575	1	Anomalie scheletriche
ArachnomeliaSM-F	0	G	0/0/575	1	Anomalie scheletriche
Brahman-Dwarfism_3	0	G	0/0/575	1	Nanismo
CMS_3	0	I	0/0/575	1	Miastenia congenita
Citrullinemia	0	G	0/0/575	1	Difetti metabolismo urea
DUMPS	0	G	0/0/575	1	Morte embrionale
HH1_1	0	G	0/0/575	1	Morte embrionale
HH3	0	A	0/0/575	1	Morte embrionale
HH4	0	A	0/0/575	1	Morte embrionale
JH1_1	0	G	0/0/575	1	Influenza la fertilità
MH1	0	G	0/0/575	1	Morte prenatale
MH2	0	G	0/0/575	1	Morte prenatale
Mulefoot-241	A	G	6/51/517	0.0046	Piede di mulo
Mulefoot-2719	0	G	0/0/575	1	Piede di mulo
Mulefoot-3595	0	G	0/0/575	1	Piede di mulo
Mulefoot-4863	0	C	0/0/575	1	Piede di mulo
CVM	0	Free	0/0/200	1	CVM
Brachyspina	0	Free	0/0/200	1	CVM

Nessuno degli animali genotipizzati risultava portatore di alleli deleteri per questi difetti, fatta eccezione per il piede di mulo. Questo difetto, che consiste nella presenza due unghia fusi in un unico dito, è una malattia autosomica recessiva, che si può quindi manifestare solo incrociando due portatori sani. Inoltre, solo la presenza combinata degli alleli a tutti i marcatori elencati in tabella porta alla manifestazione del fenotipo. Nella razza Reggiana è risultata la presenza solo di uno dei

vari marcatori associati al difetto. Quindi il rischio di avere una predisposizione alla manifestazione del difetto nella razza rimane bassissimo e quindi, dai dati ottenuti, irrilevante.

Marcatori legati al fattore rosso

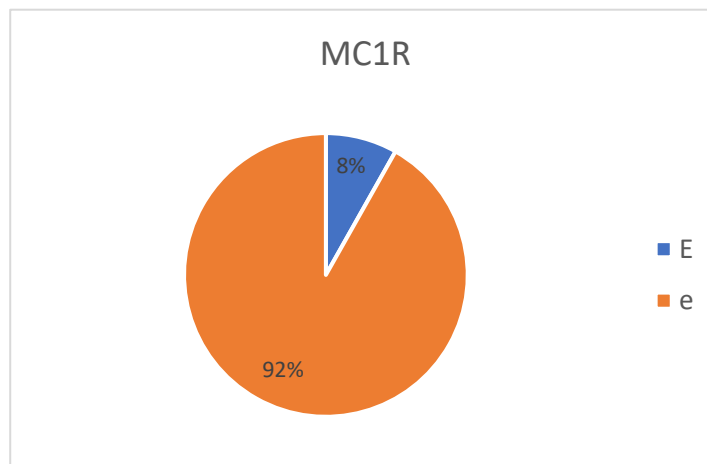
La razza Reggiana si caratterizza per il mantello rosso fromentino. Il colore del mantello è regolato da diversi alleli (E + , ED , e) del gene MC1R. Nella Reggiana, il colore rosso è dato dalla presenza in omozigosi (due copie) dell'allele e. La presenza di queste due copie è utile per autenticare geneticamente il formaggio Parmigiano Reggiano prodotto con il latte di sole Reggiane.

L'analisi del gene MC1R bovini di razza Reggiana nel precedente programma ha evidenziato che una piccola frazione di questi animali ha un genotipo e/E per MC1R. Il progetto Dual Breeding 2 ha fornito dati genomici per aumentare la frazione di animali testati per questo allele.

Inoltre, partendo dai genotipi già conosciuti dal precedente progetto, è stato possibile verificare se alcuni soggetti dubbi, parenti di animali già testati ed eterozigoti, fossero a loro volta eterozigoti.

La frequenza dei due alleli "e" ed "E", nel dataset utilizzato per questa analisi è, rispettivamente, 0.92 e 0.08 ed è illustrata in figura 5.

Figura 5. Frequenza dell'allele "e", che comporta il fenotipo fromentino ed "E" che porta ad un fenotipo diverso dal rosso fromentino nel dataset di razza Reggiana utilizzato per il progetto.



Marcatore legati alle caseine

La K-caseina è una proteina del latte molto importante per la caseificazione.

La proteina è codificata dal gene *CSN3*. Le diverse forme alleliche (A e B) di tale gene sono state associate ad una diversa attitudine casearia. L'allele B determina una migliore reazione tra caglio e caseina, aumenta la velocità di coagulazione e la dimensione delle micelle. Le frequenze dell'allele B sono leggermente superiori a quelle dell'allele A (55% contro 44%).

Questi risultati sono simili a quanto ottenuto nel precedente progetto e contribuiscono ad aumentare le informazioni disponibili per l'intera razza.

Figura 6. Frequenza degli alleli A e B per la k-caseina nella razza Reggiana

