

Caratterizzazione genetica delle popolazioni avicole locali della regione Veneto

Filippo Cendron¹, Francesco Perini², Salvatore Mastrangelo³, Emiliano Lasagna², Martino Cassandro¹

¹Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente, Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italia

²Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia, Italia

³Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze Ed. 4, 90128 Palermo, Italia

Scopo

L'obiettivo di questa ricerca è di effettuare uno studio comparativo sull'intero genoma di 8 razze italiane locali presenti in Veneto, tutte in conservazione, per stimare la loro variabilità e la loro relazione genetica.

Razze considerate



Introduzione

Nel corso dell'ultimo secolo, le risorse genetiche del bestiame sono andate incontro a una forte erosione genetica a seguito del massiccio utilizzo di razze altamente produttive che hanno sostituito le razze autoctone a bassa produttività. Tuttavia, le razze autoctone sono il risultato di un particolare adattamento, nel corso degli anni, ad un ambiente sempre più ostico e determinato da particolari caratteristiche. Pertanto, la conservazione della diversità genetica delle razze locali è fondamentale per soddisfare future esigenze di allevamento, soprattutto nel contesto del cambiamento climatico globale. Studi mirati alle variazioni genomiche all'interno di una razza sono un importante prerequisito per mantenere l'integrità delle razze locali e garantire un'adeguata conservazione. In Italia gli allevatori hanno un'importante storia di gestione e allevamento delle razze avicole locali che hanno permesso di preservare in parte la biodiversità nazionale. Tuttavia, studi su sottopopolazioni a livello regionale inerenti alle razze/specie autoctone hanno riportato che, nonostante le risorse disponibili siano geneticamente distinte, la diversità genetica rimane comunque minacciata (Marelli et al., 2006; Tadano et al., 2007; Zanetti et al., 2010; Strillacci et al., 2017).

Risultati

Tabella 1. Indici di diversità genetica delle popolazioni di polli locali oggetto di studio. Numero di individui per popolazione (n), frequenza allelica minima (MAF), eterozigosità osservata (Ho), eterozigosità attesa (He) e coefficiente di consanguineità (F_{ROH}). Ogni stima è associata alla propria deviazione standard (DS).

Razza	Codice razza	n	MAF	DS	H _o	DS	H _e	DS	F _{ROH}	DS
Ermellinata di Rovigo	PER	22	0.296 ± 0.307	0.207 ± 0.193	0.228 ± 0.198	0.439 ± 0.049				
Millefiori di Lonigo	PML	20	0.295 ± 0.248	0.308 ± 0.208	0.293 ± 0.181	0.165 ± 0.062				
Polverera Bianca	PPB	17	0.262 ± 0.254	0.225 ± 0.183	0.258 ± 0.186	0.391 ± 0.060				
Padovana Dorata	PPD	22	0.267 ± 0.274	0.227 ± 0.195	0.241 ± 0.186	0.385 ± 0.082				
Polverera Nera	PPN	20	0.253 ± 0.283	0.205 ± 0.196	0.218 ± 0.193	0.443 ± 0.064				
Pepoi	PPP	15	0.283 ± 0.342	0.162 ± 0.201	0.172 ± 0.198	0.562 ± 0.038				
Robusta Lionata	PRL	18	0.288 ± 0.330	0.190 ± 0.206	0.192 ± 0.197	0.486 ± 0.038				
Robusta Maculata	PRM	18	0.286 ± 0.343	0.166 ± 0.199	0.173 ± 0.196	0.558 ± 0.026				

Figura 1. Relazioni genetiche tra le razze di pollo locali italiane definite mediante scaling multidimensionale. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

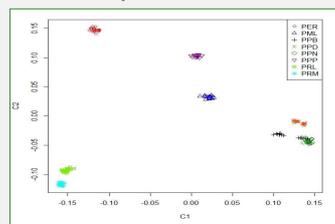
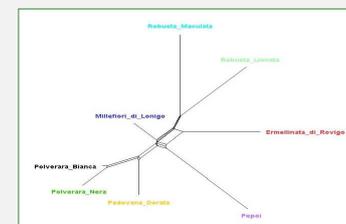


Figura 2. Albero filogenetico basato sulle distanze genetiche di Reynold per le razze avicole locali italiane.



Discussione

I risultati hanno evidenziato che la maggior parte delle razze oggetto di studio formano gruppi distinti e separati senza sovrapposizioni (Figura 1). Secondo le loro origini comuni, le razze PRL e PRM sono molto vicine tra loro, come anche le razze PPB e PPN. La PPD è molto vicina alle due Polverera, questo dovuto alla loro storia evolutiva (Mazzon, 1932; Arduin, 2014) (Figura 2). Il ramo più corto dell'albero filogenetico è identificativo della razza PPP, mentre quello più lungo della razza PPP, geneticamente molto distante da tutte le altre razze presenti in questo studio. In Figura 3 si può notare che la razza PPP evidenzia un elevato tasso di consanguineità, confermato anche dai valori in Tabella 1 (F_{ROH}), seguita dalle razze PRL e PRL. In generale, gli elevati tassi di consanguineità emersi nel presente studio suggeriscono che queste popolazioni hanno bisogno di un intervento mirato per contenere il problema e aumentare la variabilità genetica. Le eterozigosità osservate e attese concordano con i dati di consanguineità: le razze PPP, PRL e PRL mostrano i valori più bassi (Figura 4 e Tabella 1) confermando la ridotta variabilità genetica. I risultati del presente studio hanno importanti implicazioni dal punto di vista conservativo, economico e scientifico, ed evidenziano la necessità di continuare il programma di conservazione già in essere per queste razze locali. Nuovi piani di conservazione dovranno essere avviati per tutte le altre specie/razze a rischio di estinzione, per le quali ad oggi non è presente un'attività di salvaguardia, così da poter tutelare in modo più completo la biodiversità locale.

Figura 3. Box plot dei coefficienti di consanguineità sulla base delle ROH (F_{ROH}) per ciascuna razza considerata. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

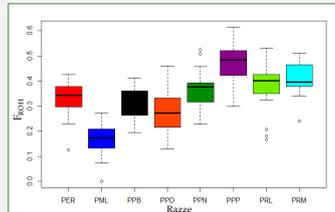
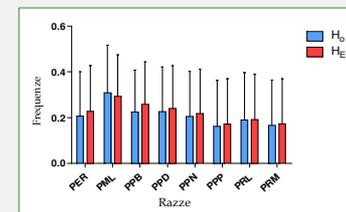


Figura 4. Confronto tra eterozigosità osservata e attesa ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.



Materiali e metodi

Campionamento e genotipizzazioni

Sono stati campionati un totale di 152 animali (da 15 a 22 animali per razza) provenienti da 8 diverse popolazioni di polli locali. Tutti i campioni di sangue sono stati raccolti dalla vena ulnare mediante prelievo venoso standard. L'estrazione e la genotipizzazione dei campioni sono state eseguite dal centro di analisi Neogen (Scorza) utilizzando un kit commerciale e il chip ad alta densità Affymetrix Axiom 600K Chicken Genotyping array, contenente oltre 580.961 SNPs, distribuiti nel genoma con una spaziatura media di 1.7 Kb. Come riferimento dei target sul genoma è stata utilizzata l'annotazione dell'intero genoma di pollo *Gallus gallus*-5.0.

Diversità genetica

Sono stati applicati dei filtri preliminari ai dati: (i) rimozione SNPs con tasso di chiamata <95%, (ii) rimozione alleli con frequenza <5%, (iii) rimozione animali con più del 10% di genotipizzazioni mancanti. Il controllo sui dati è stato eseguito mediante il software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015). L'eterozigosità osservata (H_o) e attesa (H_e), la consanguineità genomica per eccesso di omozigosità (F_{ROH}) e la MAF (2015) sono state stimate con il software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015).

Runs of Homozygosity

Le runs of homozygosity (ROH) sono state stimate per ogni animale utilizzando il software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015). Per definire le ROH sono stati utilizzati i seguenti criteri: (i) lunghezza minima delle ROH = 1Mb, (ii) all'interno delle ROH sono stati ammessi al massimo due SNPs mancanti e fino a un solo genotipo eterozigote, (iii) il numero minimo per definire le ROH è stato fissato a 100 Kb, (iv) la densità minima di SNPs per ogni ROH è stata impostata su un SNP ogni 100 Kb, (v) la distanza massima tra SNPs consecutivi in omozigosi è stata fissata a 1.000 Kb. Per stimare il coefficiente di consanguineità genomica individuale utilizzando i dati ROH (F_{ROH}), la lunghezza del genoma coperto da ROH è stata divisa per la lunghezza totale del genoma autosomico di pollo coperto dall'array SNP (944.270 Kb).

Distanze genetiche

Le distanze genetiche sono state calcolate utilizzando il cluster di comandi del software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015) e visualizzate mediante diagrammi di ridimensionamento multidimensionale (MDS). Le distanze genetiche di Reynold sono state stimate e utilizzate per costruire reti di vicinanza filogenetica mediante il software SPLITSTREE (Huson & Bryant, 2005).

Figura 5. Peso vivo (g) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.



Figura 6. Lunghezza del corpo (cm) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

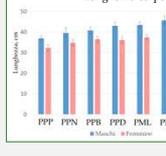


Figura 7. Circonferenza toracica (cm) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

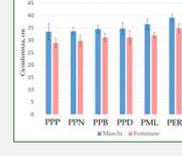


Figura 8. Apertura alare (cm) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

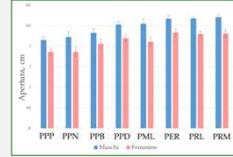


Figura 9. Lunghezza tarsi (cm) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.

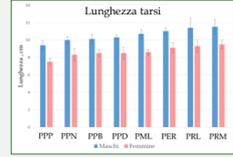
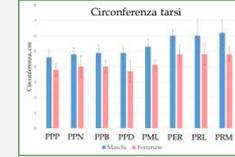


Figura 10. Circonferenza tarsi (cm) per ogni razza oggetto di studio ± deviazione standard. Per una definizione completa delle razze, vedere Tabella 1.



Bibliografia

- Arduin M. (2014) Polli di razza. Robusta Maculata. Veneto Agricoltura.
- Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C., Vattikuti, S., Purcell, S. M., & Lee, J. J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Genetics*, 41(1), 7.
- Huson, D. H., & Bryant, D. (2005). Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular biology and evolution*, 22(2), 254-267.
- Marelli, S. P., Strillacci, M. G., Ferrante, P., Pipatelli, P., Gualtieri, M., & Guidoboni Cavalcanti, L. (2006). Genetic variability of Valdarnese Bianca Chicken breed using microsatellite markers. *World's Poultry Science Journal*, 62, 207-208.
- Mazzon, L. (1932). *Dittolotta padovana*. Soc. Coop. Tipografica Ed. Padova, Italy.
- Tadano, R., Sakino, M., Nishibori, M., & Usuduki, M. (2010). Microsatellite marker analysis for the genetic relationships among Japanese long-tailed chicken breeds. *Poultry Science*, 89(3), 424-427.
- Zanetti, F., De Marchi, M., Dabiri, C., & Cassandro, M. (2010). Genetic characterization of local Italian breeds of chickens undergoing in situ conservation. *Poultry Science*, 89(3), 424-427.
- Strillacci, M. G., Cozzi, M. C., Corla, E., Mosca, F., Schiavini, F., Román-Ponce, S. J., & Bagnato, A. (2017). Genomic and genetic variability of six chicken populations using single nucleotide polymorphisms and copy number variants as markers. *Animal*, 11(5), 737-745.