

## *Programma di Sviluppo Rurale Nazionale 2014-2022*

### *Sottomisura 10.2 – Biodiversità*

#### *Progetto TuBAvI-2 (2021-2024)*

## RELAZIONE DELLE ATTIVITA' SVOLTE NEL TERZO ANNO

### UNIPD

La presente relazione descrive le attività svolte dal 01.05.2023 al 31.03.2024. L'attività è descritta per azione.

#### **Azione 1 – Caratterizzazione fenotipica delle razze e delle specie autoctone**

Nel corso del terzo anno di attività si è proceduto al campionamento di materiale biologico (sangue) e alla registrazione delle caratteristiche fenotipiche degli animali appartenenti a:

- Razza *Collo Nudo Italiana* (specie: *Gallus gallus*) (n = 48)
- Razza *Oca Padovana* (specie: *Anser anser*) (n = 53)

La raccolta di tali informazioni ha portato al completamento dell'attività di registrazione delle misure morfometriche e di prelievo del materiale biologico (sangue) previste dal progetto TuBAvI-2.

La Tabella 1 riassume le caratteristiche fenotipiche qualitative (colore dei tarsi e della pelle) di tutte le specie/razze coinvolte nel progetto, mentre la Figura 1 riporta le statistiche descrittive (media e deviazione standard) delle caratteristiche fenotipiche quantitative (peso vivo, lunghezza del corpo, lunghezza dei tarsi, circonferenza dei tarsi, apertura alare, circonferenza dello sterno) rilevate sulle medesime specie/razze. Le caratteristiche fenotipiche sono presentate per maschi e femmine entro razza, e seguono le indicazioni fornite da FAO (2012)<sup>1</sup>.

#### **Azione 2 – Caratterizzazione genetica delle razze e delle specie allevate in Italia**

Le analisi genetiche da parte del service/laboratorio esterno iniziate nel mese di giugno 2023 hanno permesso di ottenere i genotipi di tutte le specie/razze coinvolte nel progetto. A partire dal DNA estratto da campioni di sangue (circa 2 mL) e conservato in provette con EDTA a -20°C, sono state condotte le genotipizzazioni degli animali sfruttando marcatori molecolari di tipo SNP. Sono stati utilizzati due approcci, a seconda della specie:

- per le razze **Collo Nudo Italiana** e **Millefiori Piemontese** (specie: *Gallus gallus*) → Affymetrix Axiom Chicken 600K HD;
- per le razze **Anatra Mignon** e **Anatra Germanata Veneta** (specie: *Anas platyrhynchos*), **Oca Padovana** (specie: *Anser anser*) e **Faraona Camosciata** (specie: *Numida meleagris*) → low-coverage whole genome sequencing (WGS - copertura 4X).

L'approccio WGS per le specie *Anas platyrhynchos*, *Anser anser* e *Numida meleagris* è stato utilizzato poiché in commercio non esistono chip di SNP con cui effettuare la medesima genotipizzazione.

---

<sup>1</sup> FAO. (2012). Phenotypic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines, (11).

### **Azione 3 – Verifica di congruenza dei dati e delle informazioni**

Gli esiti delle genotipizzazioni sono stati controllati secondo criteri standard di qualità. Dopo avere applicato dei filtri sui genotipi, mirati a massimizzare e valutare la veridicità degli esiti, il numero di animali genotipizzati, utili per le successive analisi, è risultato il seguente:

- Razza *Collo Nudo Italiana* (specie: *Gallus gallus*) (n = 47)
- Razza *Millefiori Piemontese* (specie: *Gallus gallus*) (n = 48)
- Razza *Oca Padovana* (specie: *Anser anser*) (n = 50)
- Razza *Faraona Camosciata* (specie: *Numida meleagris*) (n = 50)
- Razza *Anatra Mignon* (specie: *Anas platyrhynchos*) (n = 50)
- Razza *Anatra Germanata* (specie: *Anas platyrhynchos*) (n = 50)

### **Azione 4 – Stima di indici genetici e genomici e gestione riproduttiva in relazione alle nuove finalità**

Le analisi successive al controllo della qualità dei dati sono state concluse per la specie *Gallus gallus*, mentre per le altre specie sono ancora in corso. Per le razze di pollo sono stati stimati i seguenti indici di diversità genetica: eterozigosità osservata ( $H_o$ ), eterozigosità attesa ( $H_e$ ), frequenza allelica minima (MAF) e Runs of Homozygosity (ROH), ossia porzioni di DNA che sono identiche su entrambi i cromosomi all'interno della popolazione e le rispettive isole di appartenenza (Tabella 2).

### **Azione 5 – Miglioramento delle risorse genetiche animali ad interesse zootecnico, valutazione della consanguineità e della diversità genetica nelle popolazioni considerate (dal calcolo dell'inbreeding alla modifica e al rilevamento dati in stazione di controllo in ambiente controllato)**

Al fine di valutare il miglioramento delle risorse genetiche e dunque monitorare il livello di consanguineità nella specie *Gallus gallus*, sono stati stimati indici specifici ( $F_{HOM}$  e  $F_{ROH}$ ) per ogni singolo animale, basati sull'eccesso di omozigosità all'interno del genoma delle razze Collo Nudo Italiana e Millefiori Piemontese. I risultati, in termini di medie entro razza, sono riportati in Tabella 2. I valori, che possono variare tra 0 e 1, indicano un basso livello di consanguineità delle due razze e, quindi, un ottimo livello di variabilità genetica.

### **Azione 6 – Monitoraggio della diversità genetica**

I dati del progetto TuBAVI-2 per la specie *Gallus gallus* sono stati uniti a quelli della medesima specie provenienti dal precedente progetto (TuBAVI). Questo ha permesso di stimare la relazione filogenetica sfruttando le distanze genetiche di Reynolds e dipingere un quadro della vicinanza tra le diverse razze appartenenti al patrimonio avicolo locale italiano (Figura 2).

### **Azione 9 – Elaborazione delle informazioni raccolte (es. elaborazione di indicatori ed indici tali da minimizzare l'impatto ambientale degli allevamenti, calcolo degli accoppiamenti programmati, ecc.)**

Con i genotipi ottenuti dal progetto TuBAVI-2 e dal precedente progetto TuBAVI per la specie *Gallus gallus*, è stato possibile condurre un'indagine finalizzata all'identificazione di geni coinvolti nella colorazione del guscio delle uova e dei tarsi (Tabella 3).

**Azione 10 – Azioni di informazione, disseminazione e preparazione di report tecnici tematici e relazioni tecnico-scientifiche, anche attraverso ausili informatici e telematici**

Nell'ambito di questa azione sono state svolte le seguenti attività:

- a) partecipazione all'aggiornamento del sito web del progetto (<https://www.pollitaliani.it/>);
- b) aggiornamento delle schede tecniche delle specie/razze avicole venete;
  - Specie: *Meleagris gallopavo*. Razze: Comune Bronzato, Ermellinato di Rovigo.
  - Specie: *Gallus gallus*. Razze: Millefiori di Lonigo, Ermellinata di Rovigo, Pepoi, Padovana (Dorata, Camosciata e Argentata), Polverara (Bianca e Nera), Robusta Maculata, Robusta Lionata;
- c) partecipazione a congressi nazionali e internazionali con presentazione orale/poster:
  - Cendron, F., Cassandro, M., Penasa, M. (2023). Copy number variants in 23 Italian local chicken breeds. In: Book of Abstracts of the 25th National Congress of the Animal Science and Production Association (ASPA), 13-16 June, Monopoli (BA), Italy. ITALIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, 22(Suppl. 1):99-100. (Abstr. O481). (Presentazione orale).
  - Cendron, F., Penasa, M., Cassandro, M. (2023). Genome-wide detection and analysis of copy number variation in Italian indigenous chicken breeds. In: Proceedings of the 12th European Symposium on Poultry Genetics, 8-10 November, Hannover, Germany, p. 46. (Poster).
- d) pubblicazione dei seguenti articoli scientifici:
  - Cendron, F., Cassandro, M., Penasa, M. (2024). Genome-wide investigation to assess copy number variants in the Italian local chicken population. JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY, 15:2.
  - Perini, F., Cendron, F., Lasagna, E., Cassandro, M., Penasa, M. (2024). Genomic Insights into Shank and Eggshell Color in Italian Local Chickens. POULTRY SCIENCE, 103:103677.

## FIGURE E TABELLE

**Tabella 1 – Colore dei tarsi e della pelle dei soggetti campionati.**

Razza	Specie	Sesso	N° animali	Colore tarsi	Colore pelle
Collo Nudo Italiana	<i>Gallus gallus</i>	Maschi	21	Giallo	Bianco
		Femmine	26	Giallo	Bianco
Faraona Camosciata	<i>Numida meleagris</i>	Maschi	25	Arancione scuro	Grigio
		Femmine	26	Marrone	Grigio
Anatra Mignon	<i>Anas platyrhynchos</i>	Maschi	12	Arancione	Bianco
		Femmine	43	Arancione	Bianco
Anatra Germanata Veneta	<i>Anas platyrhynchos</i>	Maschi	14	Arancione	Bianco
		Femmine	41	Arancione	Bianco
Oca Padovana	<i>Anser anser</i>	Maschi	23	Arancione	Bianco/Rosato
		Femmine	39	Arancione	Bianco/Rosato

**Tabella 2 – Indici di diversità genetica e coefficienti di consanguineità.**

Razza	N° animali	MAF		He		Ho		F <sub>HOM</sub>		F <sub>ROH</sub>	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Collo Nudo Italiana	47	0.31	0.17	0.67	0.12	0.65	0.14	0.00	0.07	0.00	0.00
Millefiori Piemontese	48	0.25	0.20	0.57	0.12	0.60	0.12	0.15	0.41	0.02	0.01

MAF = frequenza allelica minima; He = eterozigosità attesa; Ho = eterozigosità osservata; F<sub>HOM</sub> = indice di consanguineità stimato sull'eccesso di omozigosità; F<sub>ROH</sub> = indice di consanguineità stimato sulle sequenze di omozigosità. DS = deviazione standard.

**Tabella 3 – Geni responsabili della colorazione del guscio e dei tarsi.**

Colore tarsi		Colore guscio	
Cromosoma e posizione	Geni	Cromosoma e posizione	Geni
1:100867039-101831504	<i>CHODL, TMPRSS15, NCAM2</i>	2:61184687-61271239	<i>JARID2</i>
2:38800153-38800475	<i>EOMES, CMC1, AZI2, RBMS3</i>	4:26751167-30211214	<i>PCDH18</i>
Z:11112490-12254700	<i>SLC1A3, RANBP3L, SLC45A2</i>	5:15963249-15987149	<i>PNPLA2, SLC25A22</i>
Z: 18925613-18969905	<i>ERCC8</i>	12:15839118-16014277	<i>MITF, FAM19A4, ARL6IP5, UBA3</i>
Z: 23446708-23450910	<i>F2RL1</i>	Z :10028822-10307280	<i>NPR3, TARS, ADAMTS12, SLC45A2</i>
Z:31376546-32699330	<i>NFIB, ZDHHC21, CER1, PSIP1, BNC2, TYRP1</i>		
Z:78846780-79172113	<i>CDKN2A, CDKN2B</i>		
Z:78846780-79172113	<i>MTAP, FEM1C</i>		
Z:78846780-79213873	<i>TRIM36, GRAMD3</i>		

Figura 1 – Media e deviazione standard delle caratteristiche fenotipiche quantitative per razza e sesso dei soggetti.

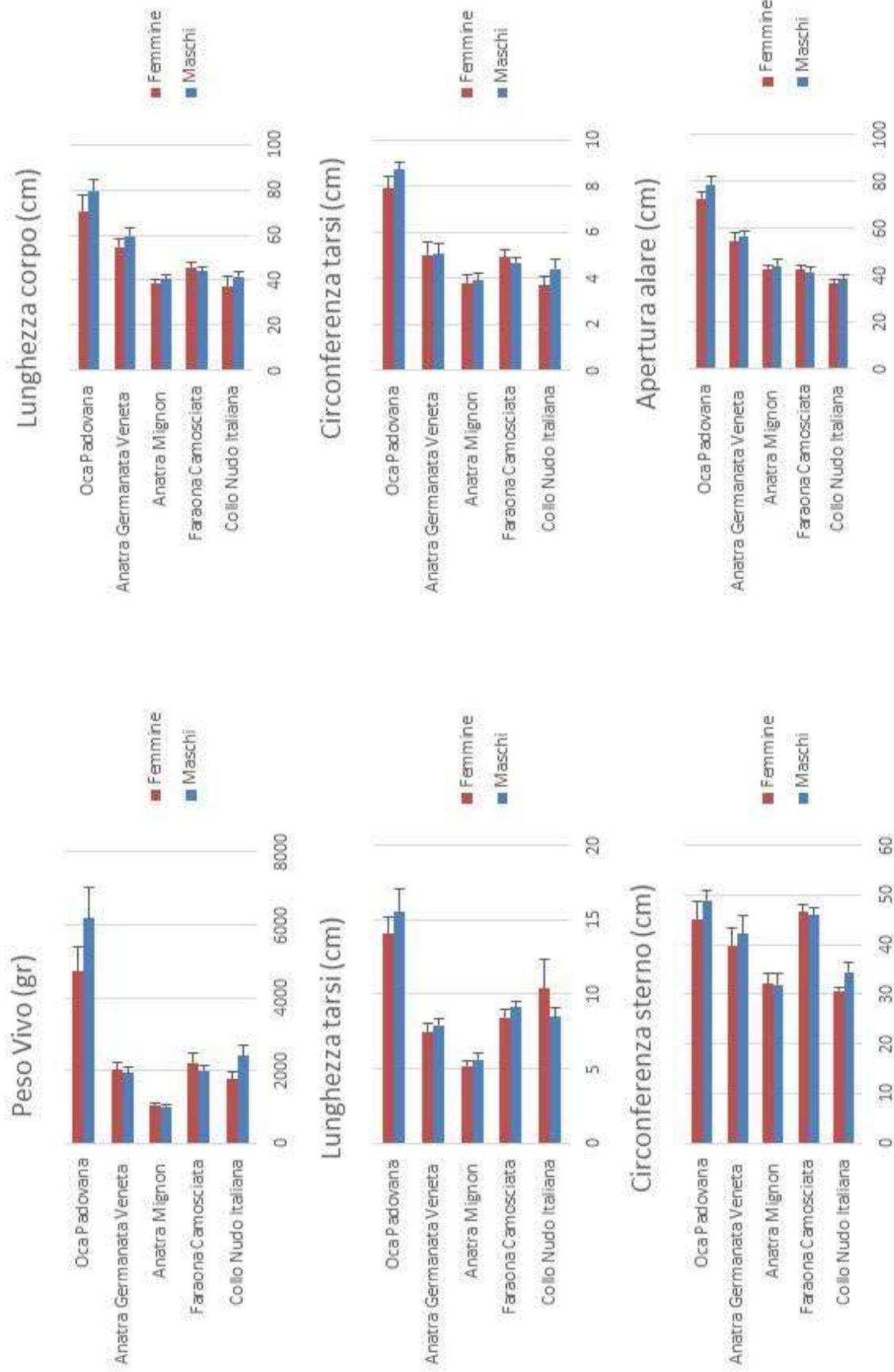
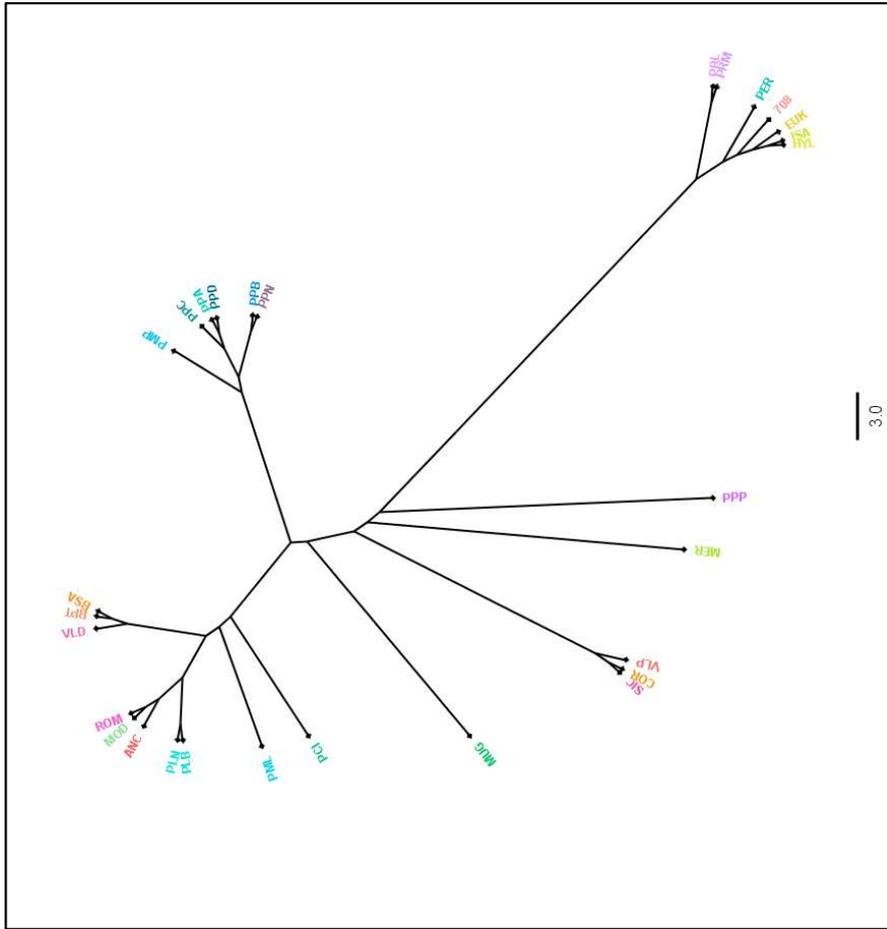


Figura 2 – Albero filogenetico per le razze di pollo (specie: *Gallus gallus*) dei progetti TuBAVi e TuBAVi-2, ottenuto con le distanze genetiche di Reynolds.



Ancona (ANC), Bianca di Saluzzo (BSA), Bionda Piemontese (BPT), Cornuta di Caltanissetta (COR), Collo Nudo Italiana (PCI), Livorno Bianca (PLB), Livorno Nera (PLN), Millefiori Piemontese (PMP), Mericanel della Brianza (MER), Modenese (MOD), Mugellense (MUG), Ermellinata di Rovigo (PER), Millefiori di Lonigo (PML), Padovana Argentata (PPA), Polverara Bianca (PPB), Padovana Camosciata (PPC), Padovana Dorata (PPD), Polverara Nera (PPN), Pepoi (PPP), Robusta Lionata (PRL), Robusta Maculata (PRM), Romagnola (ROM), Siciliana (SIC), Valdarnese (VLD), Valpatani (VLP), Broiler Ross 708 (708), Eureka (EUK), Hy-lyne (HYL), ISA Brown (ISA).