

Indice Genomico Proteina – Razza Sarda

Introduzione

Le applicazioni tradizionali della selezione genomica si basano su popolazioni di riferimento di maschi con test di progenie accurati che vengono utilizzati per stimare il valore genomico degli animali candidati alla selezione. In molte razze ovine da latte, la fattibilità di questo approccio è limitata dal modesto numero di arieti con un numero sufficiente di figlie per usarli come popolazione di riferimento. Inoltre, risulta estremamente costoso misurare su larga scala caratteri innovativi legati alla qualità del latte, alla sanità e alla sostenibilità della produzione. Per superare questi limiti, nella razza Sarda è stata proposta un approccio alternativo della selezione genomica basata su una popolazione femminile di riferimento (PFR) tenendo conto della sua sostenibilità economica. La PFR, allevata in un unico gregge, è stata costituita da figlie di arieti utilizzati nel libro genealogico (LG) per campionare al meglio l'intera variabilità genetica della popolazione in selezione. Nel "gregge genomico" sono stati misurati con maggiore accuratezza sia i caratteri tradizionali che innovativi e identificati nuovi fenotipi che più si avvicinano al genotipo studiato. I risultati dei vari studi sull'identificazione di QTL per i caratteri misurati e l'accuratezza della stima del valore genomico degli arieti del LG per la produzione di latte realizzati sulla base della popolazione di riferimento femminile hanno mostrato che l'approccio proposto è un'opzione realistica per aumentare l'efficacia dell'attuale programma di selezione della razza Sarda. La PFR è fondamentale per implementare l'applicazione degli strumenti genomici allo schema di selezione. Per caratteri costosi da misurare su larga scala, la PFR consente di produrre valori genomici per arieti adulti e giovani con accuratezza sufficiente. D'altra parte, per i caratteri misurati routinariamente nell'LG, l'accumulo progressivo di genotipi di arieti unitamente all'applicazione delle metodologie ssGBLUP (Mistral et al., 2009) consente di aumentare l'accuratezza dei valori genetici migliorati dalla genomica. Inoltre, l'uso di chip per l'analisi del DNA che includono SNP causali o in LD con mutazioni causali può aiutare ad accelerare il progresso genetico e rendere più fattibile la registrazione del pedigree. L'impatto della PFR e la sua efficacia in termini di costi possono essere aumentati da un'organizzazione del LG in fasce di allevamenti stabilite in base al tasso di applicazione degli strumenti di selezione, ovvero l'incidenza del pedigree conosciuto e l'impegno nel programma AI nell'allevamento.

Costituzione della popolazione di riferimento

La costituzione della PFR è iniziata nel 1999 con l'accoppiamento di 10 arieti Lacaune × Sarda F1 con pecore di razza Sarda per produrre 928 agnelle nell'ambito di un progetto europeo volto a rilevare il QTL nelle principali razze ovine europee (QLK5-CT-2000-00656; "genesheepsafety"). In seguito,

Associazione Nazionale della Pastorizia

tutta la rimonta femminile è stata generata utilizzando sempre arieti provenienti da LG. Gli arieti di razza Sarda sono sempre stati scelti in base al loro impatto genetico sul LG in particolare fra quelli appartenenti al centro di inseminazione artificiale della razza. In totale, fino al 2022 sono state generate 5034 pecore da 222 montoni (di cui 206 di razza Sarda). La percentuale media stimata di sangue Lacaune nell'intera popolazione è inferiore al 10% (dal 25% della prima generazione del 2000 allo 0,1% nella generazione nata nel 2022). Le pecore della PFR sono state allevate fino alla 4° (occasionalmente la 5°) lattazione nell'allevamento "genomico" di "Monastir" di proprietà di AGRIS. Il sistema di allevamento è simile a quello comunemente applicato in Sardegna con la maggior parte delle pecore adulte che partoriscono in autunno e le femmine di un anno tra gennaio e marzo. Le pecore sono state munte due volte al giorno a macchina dallo svezzamento (3-4 settimane dall'agnello) fino alla fine di luglio. Il regime alimentare si basa sul pascolo di erbai, integrato da fieno e concentrati in inverno e tarda primavera.

Calcolo dell'indice genomico per la resistenza ai nematodi

Fenotipo

Il carattere utilizzato per valutare la resistenza ai nematodi gastro intestinali (GIN) è la conta delle uova fecali (FEC), cioè il numero di uova del parassita per grammo di feci. Periodicamente è stato monitorato un campione di ~ 50 pecore che rappresentavano i diversi gruppi di gestione, per valutare la percentuale di animali infetti e decidere se campionare l'intero gregge ed eventualmente somministrare un trattamento antelmintico. Il numero di uova di strongili per g è stato determinato utilizzando un test copro-microscopico secondo la tecnica McMaster su singoli campioni. Quando il numero di animali infetti e il livello di infestazione sono stati ritenuti sufficienti per apprezzare la variabilità individuale, sono state misurate le FEC individuali sull'intero gregge. Dal 2000 al 2022 le singole FEC sono state rilevate da una a tre volte per anno produttivo (considerato da settembre ad agosto), in funzione del livello di infestazione riscontrato nei periodici campionamenti di monitoraggio che dipendevano dalle variazioni annuali di precipitazioni e temperature. Alla fine, sono state registrate 19.889 misurazioni FEC in 28 date separate e su 5.171 animali. Il numero medio di registrazioni per pecora è stato di $3,8 \pm 2,1$ variando da 1 a 9 (11% degli animali con 1-2 misurazione e 26% sa 8 in su); oltre la metà delle pecore (53%) presentava da 3 a 5 misurazioni. Le FEC, che presentano una distribuzione distorta, sono state logaritmicamente trasformate per le analisi successive con la seguente relazione:

$$\ln Fec = \ln(FEC + 14)$$

Genotipo

Associazione Nazionale della Pastorizia

Sono stati genotipizzati con OvineSNP50 Beadchip di Illumina Inc., 5.110 delle 5.171 pecore con fenotipo, 231 padri (di cui 214 di razza Sarda) e 1859 arieti di razza Sarda. La selezione degli SNP è stata fatta utilizzando un call rate e soglia di MAF rispettivamente del 90% e dell'1%. Dopo i controlli di qualità, sono stati tenuti per l'analisi 43.633 SNP su 26 autosomi.

La scelta degli animali da avviare all'analisi del genoma è fatta con l'intento di favorire l'implementazione della selezione genomica nel LG della razza Sarda utilizzando il gregge dell'azienda "Monastir" di Agris come popolazione di riferimento e disporre di arieti con indici genomici per caratteri produttivi e funzionali, impiegati nelle aziende iscritte al LG. In base a ciò la scelta ricade preferibilmente su:

- tutte le pecore del gregge genomico che entrano in produzione;
- arieti delle aziende iscritte al LG della razza Sarda, con diagnosi di parentela accertata per entrambi i genitori, genotipo ARR/ARR al gene PrP per la resistenza alla Scrapie, impiegati nei gruppi di monta;
- arieti del Centro Arieti e delle aziende sperimentali di AGRIS che sono utilizzati per la produzione di seme per la fecondazione artificiale, riproduzione delle aziende AGRIS e vendita all'asta ad allevamenti iscritti e non.

Modello

La stima delle componenti della varianza e dei valori genomici è stata effettuata col metodo Single Step Genomic Best linear Unbiased Prediction (ssGBLUP) con un modello animale a misure ripetute:

$$y = D + Ag + PS + a + pe + e$$

dove y corrisponde all'osservazione del carattere FEC (lnFEC), D è l'effetto della data di campionamento, Ag è l'effetto dell'età dell'animale al campionamento, PS è l'effetto dello stato fisiologico, a è l'effetto genetico additivo, pe è l'effetto ambiente permanente, e il residuo. D , Ag e PS sono stati inseriti nel modello come effetti fissi, tutti gli altri sono casuali.

Descrizione degli indici

L'indice per la resistenza ai nematodi è stato prodotto per 2073 arieti di razza Sarda (214 padri della PRF e 1859 arieti del LG) e 2957 pecore dell'allevamento genomico (PRF) attualmente iscritte al LG della razza Sarda.

Negli arieti il valore va da 52 a 159 con una media di 96 ± 12 . Nella tabella 1 sono riportate le statistiche descrittive dell'indice per anno di nascita dell'ariete. L'accuratezza degli indici ha una media di $0,39 \pm 0,15$ con intervallo che va da 0,00 a 0,90.

Tabella 1 - Statistiche descrittive dell'indice per la resistenza ai nematodi (lnFEC) per anno di nascita dell'ariete

Anno nascita	N	Media	Dev. standard	Minimo	Massimo	% sopra la media di 100
>=2013	547	99	14	52	159	43%
2014	104	96	11	66	118	39%
2015	148	94	11	60	125	28%
2016	154	95	12	67	127	33%
2017	235	94	10	73	124	29%
2018	221	95	9	69	117	28%
2019	183	94	11	68	150	29%
2020	222	95	11	60	128	33%
2021	116	99	14	55	134	47%
2022	143	97	12	67	128	41%
Totale	2073	96	12	52	159	36%

Nelle pecore dell'allevamento genomico il valore va da 44 a 168 con una media di 106 ± 17 . Nella tabella 2 sono riportate le statistiche descrittive dell'indice per anno di nascita della pecora.

Tabella 2 - Statistiche descrittive dell'indice per la resistenza ai nematodi (lnFEC) per anno di nascita della pecora

Anno nascita	N	Media	Dev. standard	Minimo	Massimo
>=2013	1243	110	17	55	168
2014	125	111	20	52	156
2015	199	106	18	53	152
2016	262	106	19	44	158
2017	201	103	17	55	152
2018	176	100	16	63	146
2019	206	98	15	56	135
2020	202	103	14	60	137
2021	176	106	16	74	165
2022	167	100	12	71	139
Totale	2957	106	17	44	168

Calcolo dell'indice genomico per la percentuale di proteina del latte

Fenotipo

I dati utilizzati sono stati 16.484 record di lattazione della percentuale di proteina nel latte (TP) di 5033 pecore registrati dal 2000 al 2022. La percentuale di proteina nel latte è stata calcolata come rapporto tra quantità di proteina e quantità di latte prodotti in lattazione. I valori per lattazione sono stati calcolati il metodo Fleischmann, utilizzando solo i controlli in modalità A4 con frequenza quindicinale del periodo di mungitura (in accordo con le raccomandazioni ICAR), considerando un periodo iniziale di allattamento di 30 giorni. Il numero medio di lattazioni per pecora è di $3,3 \pm 0,9$, variando da 1 (8% degli animali) a 4 (60,8% degli animali).

Genotipo

Sono stati genotipizzati con OvineSNP50 Beadchip di Illumina Inc., 4941 delle 5033 pecore con fenotipo, 222 padri (di cui 205 di razza Sarda) e 1868 arieti di razza Sarda. La selezione degli SNP è stata fatta utilizzando un call rate e soglia di MAF rispettivamente del 90% e dell'1%. Dopo i controlli di qualità, sono stati tenuti per l'analisi 43.633 SNP su 26 autosomi.

La scelta degli animali da avviare all'analisi del genoma è fatta con l'intento di favorire l'implementazione della selezione genomica nel LG della razza Sarda utilizzando il gregge dell'azienda "Monastir" di Agris come popolazione di riferimento e disporre di arieti con indici genomici per caratteri produttivi e funzionali, impiegati nelle aziende iscritte al LG. In base a ciò la scelta ricade preferibilmente su:

- tutte le pecore del gregge genomico che entrano in produzione;
- arieti delle aziende iscritte al LG della razza Sarda, con diagnosi di parentela accertata per entrambi i genitori, genotipo ARR/ARR al gene PrP per la resistenza alla Scrapie, impiegati nei gruppi di monta;
- arieti del Centro Arieti e delle aziende sperimentali di AGRIS che sono utilizzati per la produzione di seme per la fecondazione artificiale, riproduzione delle aziende AGRIS e vendita all'asta ad allevamenti iscritti e non.

Modello

La stima delle componenti della varianza e dei valori genomici è stata effettuata col metodo Single Step Genomic Best linear Unbiased Prediction (ssGBLUP) con un modello animale a misure ripetute:

$$y = YAS + YAP + a + pe + e$$

dove y corrisponde all'osservazione del carattere percentuale di proteina nel latte (TP), YAS è l'effetto dell'interazione tra anno-classe di età e classe di stagione di parto, YAP è l'effetto dell'interazione tra anno-classe di età e parità-classe di parto mese, a è l'effetto genetico additivo, pe è l'effetto ambiente permanente, e il residuo. YAS e YAP sono stati inseriti nel modello come effetti fissi, tutti gli altri sono casuali.

Descrizione degli indici

L'indice per la percentuale di proteina nel latte è stato prodotto per 2073 arieti di razza Sarda (205 padri della PRF e 1868 arieti del LG) e 2815 pecore dell'allevamento genomico (PRF) attualmente iscritte al LG della razza Sarda.

Negli arieti il valore va da 51 a 148 con una media di 94. Nella tabella 1 sono riportate le statistiche descrittive dell'indice per anno di nascita dell'ariete. L'accuratezza degli indici ha una media di 0,60 ± 0,19 con intervallo che va da 0,10 a 0,98.

Tabella 3 - Statistiche descrittive dell'indice per la percentuale di proteina nel latte per anno di nascita dell'ariete

Anno nascita	N	Media	Dev. standard	Minimo	Massimo	% sopra la media di 100
>=2013	547	97	13	57	148	53%
2014	104	92	12	65	118	39%
2015	148	95	11	51	118	45%
2016	154	95	11	59	120	45%
2017	235	94	10	70	122	40%
2018	221	95	10	58	119	44%
2019	183	92	11	62	127	36%
2020	222	92	11	59	123	33%
2021	116	89	15	55	138	28%
2022	143	90	14	62	122	34%
Totale	2073	94	12	51	148	42%

Nelle pecore dell'allevamento genomico il valore va da 59 a 151 con una media di 102. Nella tabella 2 sono riportate le statistiche descrittive dell'indice per anno di nascita della pecora.

Tabella 4 - Statistiche descrittive dell'indice per la percentuale di proteina nel latte per anno di nascita della pecora

Anno nascita	N	Media	Dev. standard	Minimo	Massimo
>=2013	1342	104	11	71	141
2014	126	103	11	71	144
2015	199	100	12	74	135
2016	259	102	10	73	129
2017	200	100	11	68	126
2018	177	101	9	78	130
2019	178	96	12	59	151
2020	206	100	10	75	124
2021	128	96	9	74	117
Totale	2815	102	11	59	151