



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

ATTIVITÀ DI CONSULENZA TECNICO-SCIENTIFICA NELL'AMBITO DEL PROGETTO DUALBREEDING2 "LE RAZZE BOVINE A DUPLICE ATTITUDINE: UN MODELLO ALTERNATIVO DI ZOOTECNIA ECO-SOSTENIBILE" – PSRN PROGRAMMA DI SVILUPPO RURALE NAZIONALE 2014/2020 – SOTTOMISURA 10.2 - SOSTEGNO PER LA CONSERVAZIONE, L'USO E LO SVILUPPO SOSTENIBILI DELLE RISORSE GENETICHE IN AGRICOLTURA – ATTIVITÀ DI CARATTERIZZAZIONE DELLE RISORSE GENETICHE ANIMALI DI INTERESSE ZOOTECNICO E SALVAGUARDIA DELLA BIODIVERSITÀ

Unità del Dipartimento di Agraria dell'Università degli Studi di Sassari

Aggiornamento sullo stato di avanzamento delle attività del progetto a Maggio 2023

1) Analisi delle regioni di omozigosi

Usando il pacchetto *detectruns* di R sono state calcolate le regioni di omozigosi (ROH), ovvero segmenti del genoma privi di eterozigosi. I parametri per definire le ROH sono stati calcolati utilizzando la formula di Purfield et al. (2012):

$$l = \frac{\log_e \frac{\alpha}{n_s \cdot n_i}}{\log_e (1 - het)}$$

Dove n_s è il numero di SNP per individuo, n_i è il numero di individui, α è la percentuale di falsi positivi (0.05) ed *het* è l'eterozigosi media. La stessa formula è stata utilizzata per calcolare il numero di SNP mancanti permessi in una ROH utilizzando il tasso di non-missing al denominatore al posto dell'eterozigosi, mentre per calcolare il numero di SNP eterozigoti ammessi all'interno di una ROH è stato preso in considerazione il rapporto fra eterozigosi e omozigosi. Di conseguenza, i parametri erano:

- per la Pinzgauer, che presentava 100 animali con 121,189 SNP, almeno 43 marcatori omozigoti di fila, 1 eterozigote e 5 missing all'interno di una ROH;



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

- per la Pustertaler, che presentava 155 animali con 121,189 SNP, almeno 44 marcatori omozigoti di fila, 1 eterozigote e 5 missing all'interno di una ROH;
- per la Grigio Alpina, che presentava 320 animali con 28,270 SNP, almeno 49 marcatori omozigoti di fila, nessun eterozigote e 4 missing all'interno di una ROH.

In tutto sono state riscontrate 15,315 regioni di omozigosi nei 575 animali analizzati. In Tabella 1 sono riportati i risultati dell'analisi e in Figura 1 la relazione grafica fra il numero di ROH e la lunghezza totale in milioni di paia di basi per le tre razze oggetto di studio.

Tabella 1. Risultati dell'analisi delle regioni di omozigosi.

	Grigio Alpina	Pustertaler	Pinzgauer
ROH totali	4,496	6,022	4,797
ROH/animale	14.05±4.33	38.85±16.59	47.97±14.72
Lunghezza media (SNP)	112.04±72.36	146.54±153.98	191.76±169.8
Lunghezza media (Mb)	9.35±7.21	3.01±3.09	3.91±3.41

Come ci si aspettava, all'aumentare del numero di ROH per animale corrispondeva un generale aumento della lunghezza totale delle ROH. In particolare, la correlazione tra questi due parametri (numero di ROH per animale e lunghezza totale delle ROH per animale) era 0.83 nella Grigio Alpina (punti rossi in Figura 1), 0.79 nella Pinzgauer (punti verdi in Figura 1) e 0.85 nella Pustertaler (punti blu in Figura 1).



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

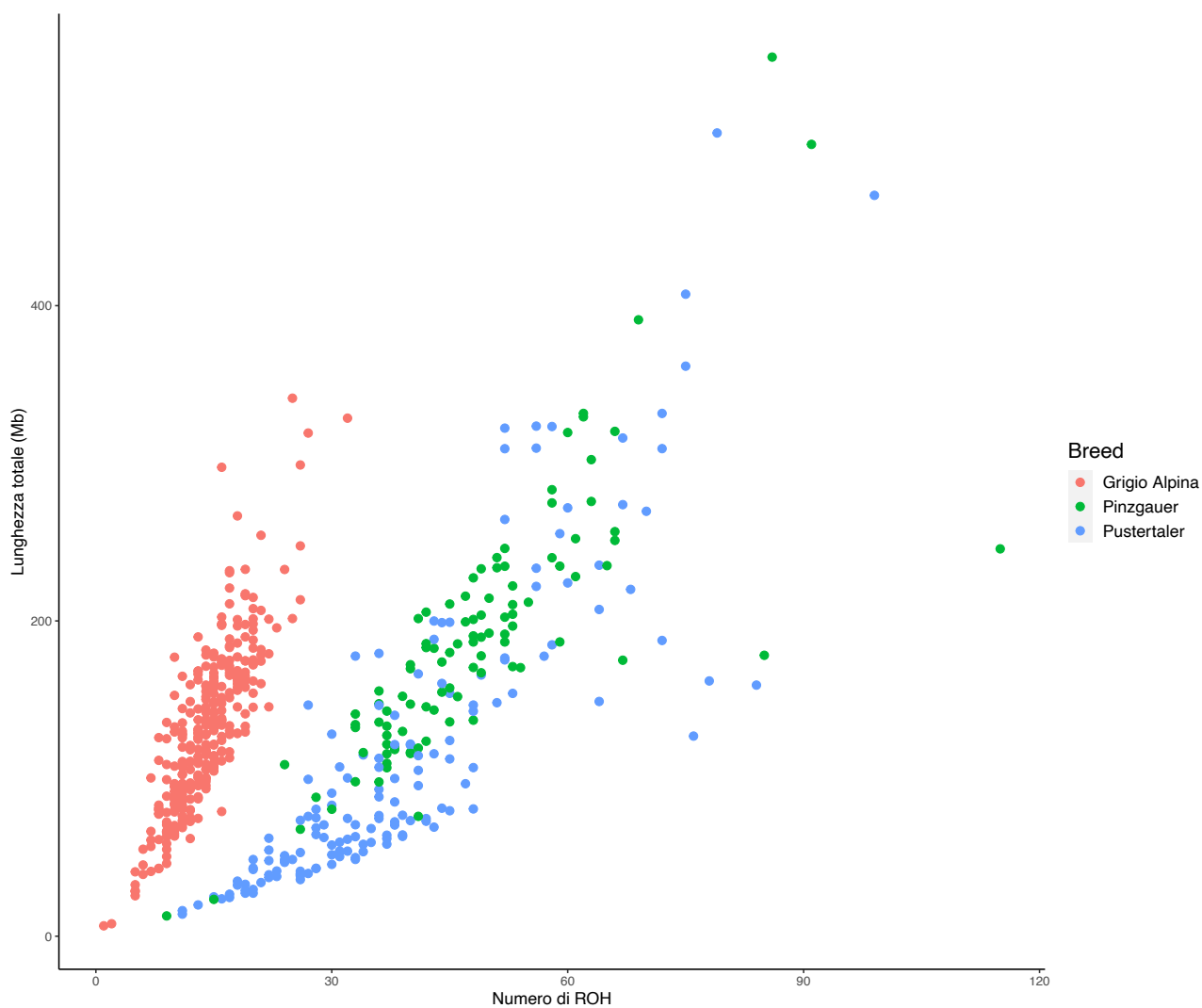


Figura 1. Relazione tra numero di regioni di omozigosi e lunghezza totale per ciascun animale delle tre razze oggetto di studio.



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

Tabella 2. Caratteristiche delle ROH per classe di lunghezza nelle tre razze oggetto di studio.

	Grigio Alpina	Pustertaler	Pinzgauer
nROH 1-2 Mb	251	3,597	2,017
nROH 2-4 Mb	498	1,186	1,173
nROH 4-8 Mb	1,748	741	970
nROH 8-16 Mb	1,415	456	606
nROH $\geq$ 16 Mb	584	42	31
Totale nROH	4,496	6,022	4,797
nROH per animale			
media $\pm$ DS	14.05 $\pm$ 4.33	38.85 $\pm$ 16.59	47.97 $\pm$ 14.72
Min	1	11	9
Max	32	99	115
Lunghezza, media$\pm$DS			
nROH 1-2 Mb	1.38 $\pm$ 0.27	1.36 $\pm$ 0.27	1.40 $\pm$ 0.28
nROH 2-4 Mb	3.11 $\pm$ 0.53	2.75 $\pm$ 0.56	2.85 $\pm$ 0.56
nROH 4-8 Mb	5.99 $\pm$ 1.08	5.69 $\pm$ 1.17	5.73 $\pm$ 1.17
nROH 8-16 Mb	11.09 $\pm$ 2.24	10.91 $\pm$ 2.16	10.64 $\pm$ 1.97
nROH $\geq$ 16 Mb	23.93 $\pm$ 8.38	18.47 $\pm$ 1.91	18.64 $\pm$ 2.61
Media generale	9.35 $\pm$ 7.21	3.91 $\pm$ 3.41	3.01 $\pm$ 3.09

La razza Pinzgauer ha mostrato un numero di ROH per animale (47.97 $\pm$ 14.72) maggiore rispetto a Pustertaler (38.85 $\pm$ 16.59) e Grigio Alpina (14.05 $\pm$ 4.33). Il più basso numero di ROH per animale trovate nella Grigio Alpina è dovuto all'utilizzo di meno SNP per questa razza. Per quanto riguarda la distribuzione delle ROH nelle diverse classi di lunghezza, la classe più numerosa era quella tra 2 e 4 milioni di paia di basi sia per Pustertaler che per Pinzgauer, e quella fra 4 e 8 milioni di paia di basi per la Grigio Alpina (Tabella 1). La



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

lunghezza media delle ROH era di 9.35 ± 7.21 (Grigio Alpina), 3.91 ± 3.41 (Pinzgauer) e 3.01 ± 3.09 Mb (Pustertaler).

La Tabella 3 mostra i risultati delle caratteristiche delle ROH per ciascun cromosoma nelle tre razze oggetto di studio. La razza Grigio Alpina aveva il numero maggiore di ROH (449) nel cromosoma 6, la razza Pustertaler (409) nel cromosoma 1, mentre la razza Pinzgauer (417) nel cromosoma 6. Per quanto riguarda i cromosomi con meno ROH, questi erano il BTA28 con solo 60 regioni per la razza Grigio Alpina e 65 regioni per la razza Pustertaler e il BTA27 con 63 regioni per la razza Pinzgauer.



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

Tabella 3. Caratteristiche delle ROH per cromosoma nelle tre razze oggetto di studio.

CHR	Grigio Alpina		Pustertaler		Pinzgauer	
	nROH	mediaMb	nROH	mediaMb	nROH	mediaMb
1	314	10.06±6.79	409	2.46±2.35	250	3.69±3.39
2	168	12.49±9.71	368	2.54±2.41	238	4.09±3.86
3	192	12.01±7.95	277	2.98±2.94	221	4.94±3.5
4	203	10.19±7.24	279	2.98±3.1	275	4.51±3.61
5	200	10.81±9.19	330	2.92±2.92	293	2.98±2.86
6	449	5.94±7.71	540	3.24±3.34	417	3.63±3.24
7	183	10.03±7.34	276	2.87±2.96	240	3.97±3.36
8	153	10.24±7.51	268	3.19±3.32	163	4.68±4.49
9	157	10.19±7.57	263	2.59±2.83	162	3.36±3.25
10	162	10.55±7.99	194	3.23±2.98	197	4.16±3.42
11	175	11.26±8.41	279	3.4±3.27	262	3.96±3.07
12	102	9.52±5.14	196	3.21±3.45	151	3.95±4.07
13	147	9.46±6.29	197	3.34±3.42	200	4.34±3.79
14	181	8.69±6.42	186	2.98±3.07	157	3±2.51
15	151	8.42±5.96	222	2.59±2.63	117	3.52±2.93
16	122	9.6±5.8	157	3.13±3.58	150	3.9±3.49
17	145	8.63±5.38	172	3.08±2.81	134	4.3±3.22
18	149	8.49±7.3	155	2.69±2.36	138	3.91±3.05
19	156	7.83±5.39	103	2.81±2.92	101	3.02±2.57
20	173	9.56±6.44	166	3.5±4.19	121	4.17±3.51
21	147	8.61±6.13	191	3.26±3.18	132	3.63±3.08
22	94	9.1±5.73	122	4.24±4.17	99	3.77±3.09
23	95	8.64±6.4	119	2.4±2.26	82	3.3±2.61
24	84	10.16±8.64	141	2.94±3.14	96	4.2±3.59
25	75	8.01±5.21	78	2.7±2.3	71	3.91±2.52
26	97	8.56±4.46	99	3.68±3.93	89	3.6±3.25
27	69	7.93±3.46	71	3.46±3.63	63	3.87±3.97
28	60	8.06±4.83	65	3.84±4.03	94	4.21±3.64
29	93	9.19±5.08	99	2.74±2.53	84	4.75±3.96



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

2) Analisi dell'indice di fissazione di Wright (FST)

Utilizzando il software GCTA (Yang et al., 2011), è stato calcolato l'indice di fissazione di Wright (FST) seguendo la formula di Weir (1966).

Ai valori grezzi di FST calcolati con il software è stata applicata la LOWESS, una tecnica di regressione locale pesata che permette di avere dei risultati migliori e di più facile interpretazione (Pintus et al., 2014). Il parametro di smoothing adottato è stato calcolato per cromosoma dividendo 20 (finestra scelta per le analisi) per il numero di marcatori localizzati in ciascun autosoma utilizzato per le analisi.

I marcatori interessanti, definiti marcatori *outliers*, erano quelli il cui valore previsto dalla LOWESS superava le tre deviazioni standard dalla media del cromosoma (Cesarani et al., 2019).

Le tre razze sono state confrontate a coppie per un totale di tre confronti.

La Tabella 4 riporta i risultati dell'analisi FST, in termini di parametro di *smoothing* adottato e numero di outliers identificati per ciascun cromosoma nei tre confronti.

I marcatori outliers identificati erano 2,560 nel confronto tra Grigio Alpina (razza 11) e Pinzgauer (razza 14), 2,770 nel confronto tra Grigio Alpina (razza 11) e Pustertaler (razza 77), ed infine 1,692 nel confronto tra Pinzgauer (razza 14) e Pustertaler (razza 77). Il cromosoma con il più alto numero di outliers era il BTA1 nei confronti tra Grigio Alpina e Pinzgauer e tra Grigio Alpina e Pustertaler, e il BTA2 tra Pustertaler e Pinzgauer.

Nelle Figure 2, 3 e 4 sono riportati graficamente i risultati dell'analisi dell'indice FST cromosoma per cromosoma nei tre confronti.



Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

Tabella 4. Risultati dell'analisi FST nei tre confronti.

BTA	Parametro Smoothing	Numero di Outliers		
		11 vs 14	11 vs 77	14 vs 77
1	0.0027	163	189	105
2	0.0031	145	146	107
3	0.0034	114	133	80
4	0.0036	141	116	77
5	0.0033	97	138	89
6	0.0029	133	136	93
7	0.0035	114	136	78
8	0.0039	118	117	71
9	0.0041	119	122	64
10	0.0041	97	105	55
11	0.0040	104	131	69
12	0.0048	96	96	53
13	0.0051	85	95	61
14	0.0041	106	105	77
15	0.0050	87	86	58
16	0.0053	86	101	50
17	0.0058	66	93	39
18	0.0065	68	70	39
19	0.0068	53	60	34
20	0.0052	90	80	72
21	0.0061	75	79	45
22	0.0070	62	63	34
23	0.0081	63	65	34
24	0.0059	56	75	65
25	0.0099	36	28	36
26	0.0082	56	54	35
27	0.0094	50	55	28
28	0.0094	35	48	28
29	0.0085	45	48	16
0.0055		2,560	2,770	1,692

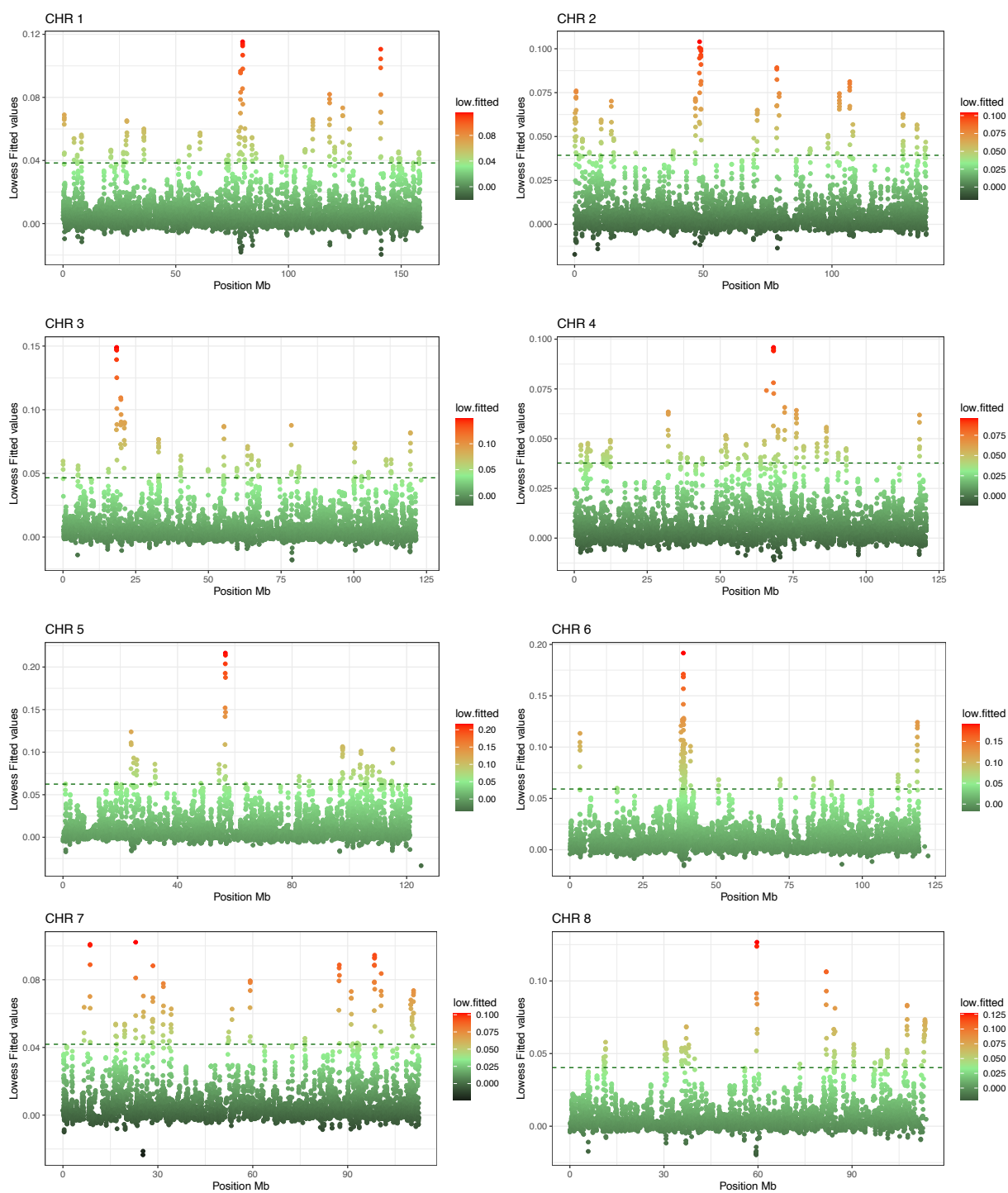


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



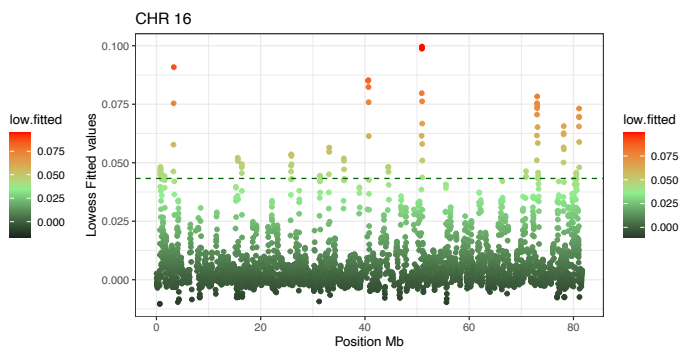
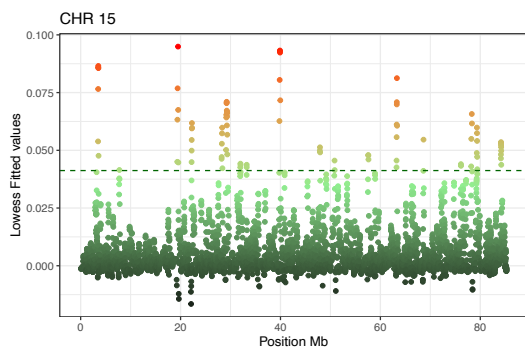
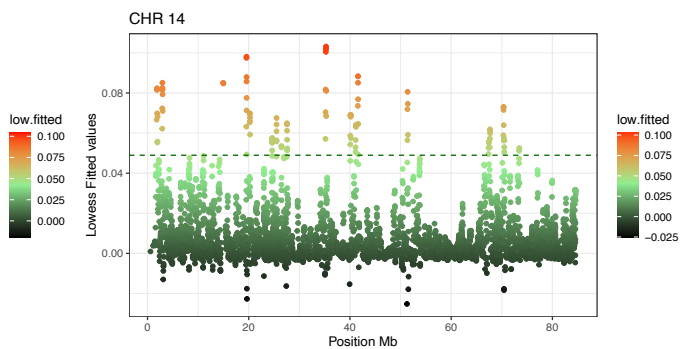
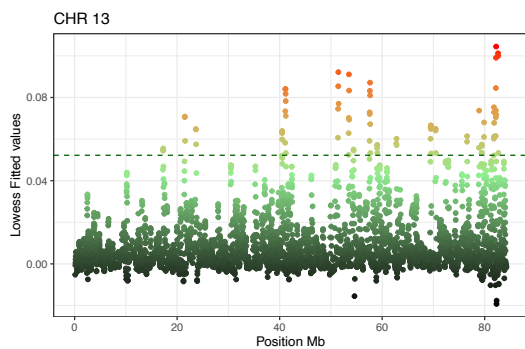
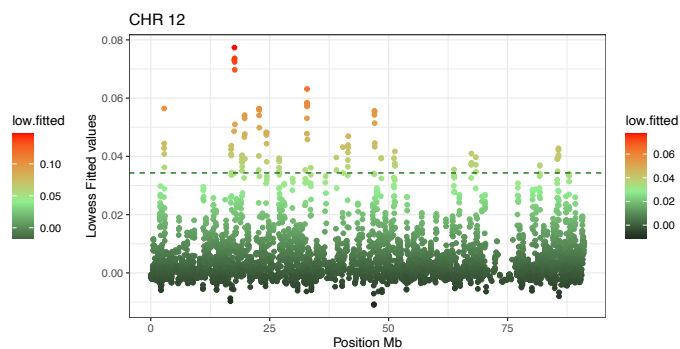
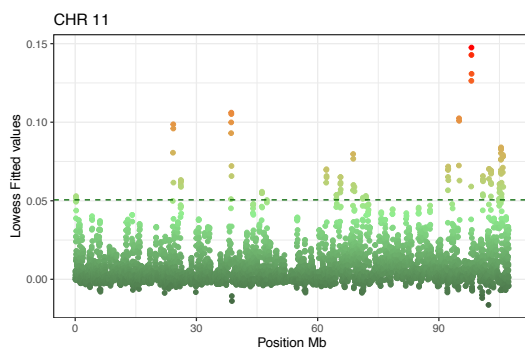
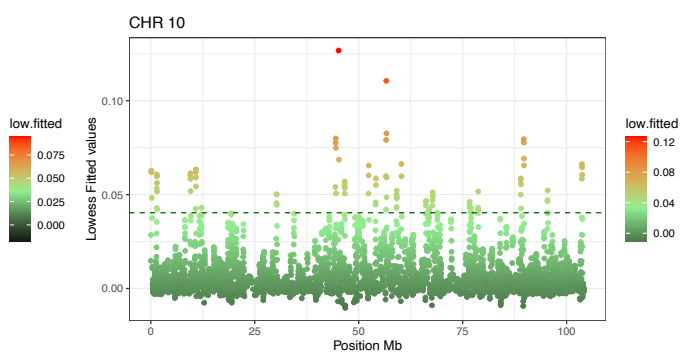
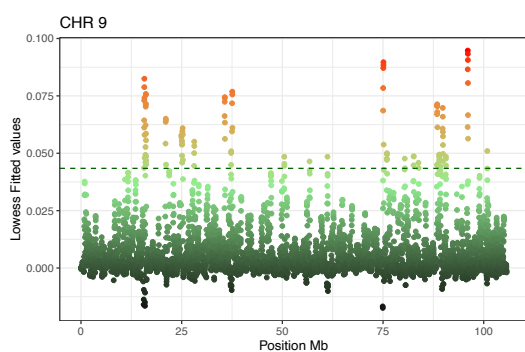


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



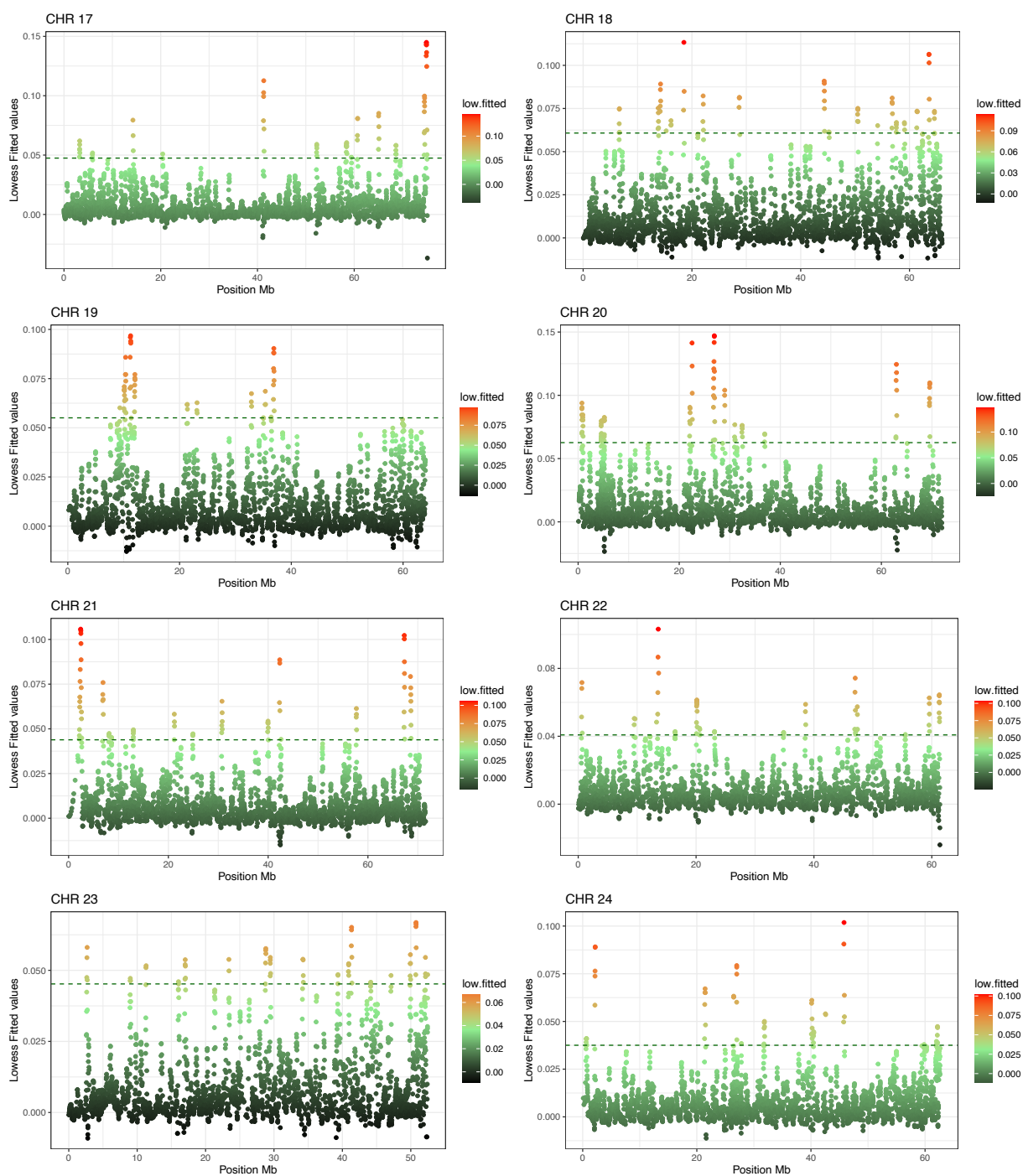


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904





Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

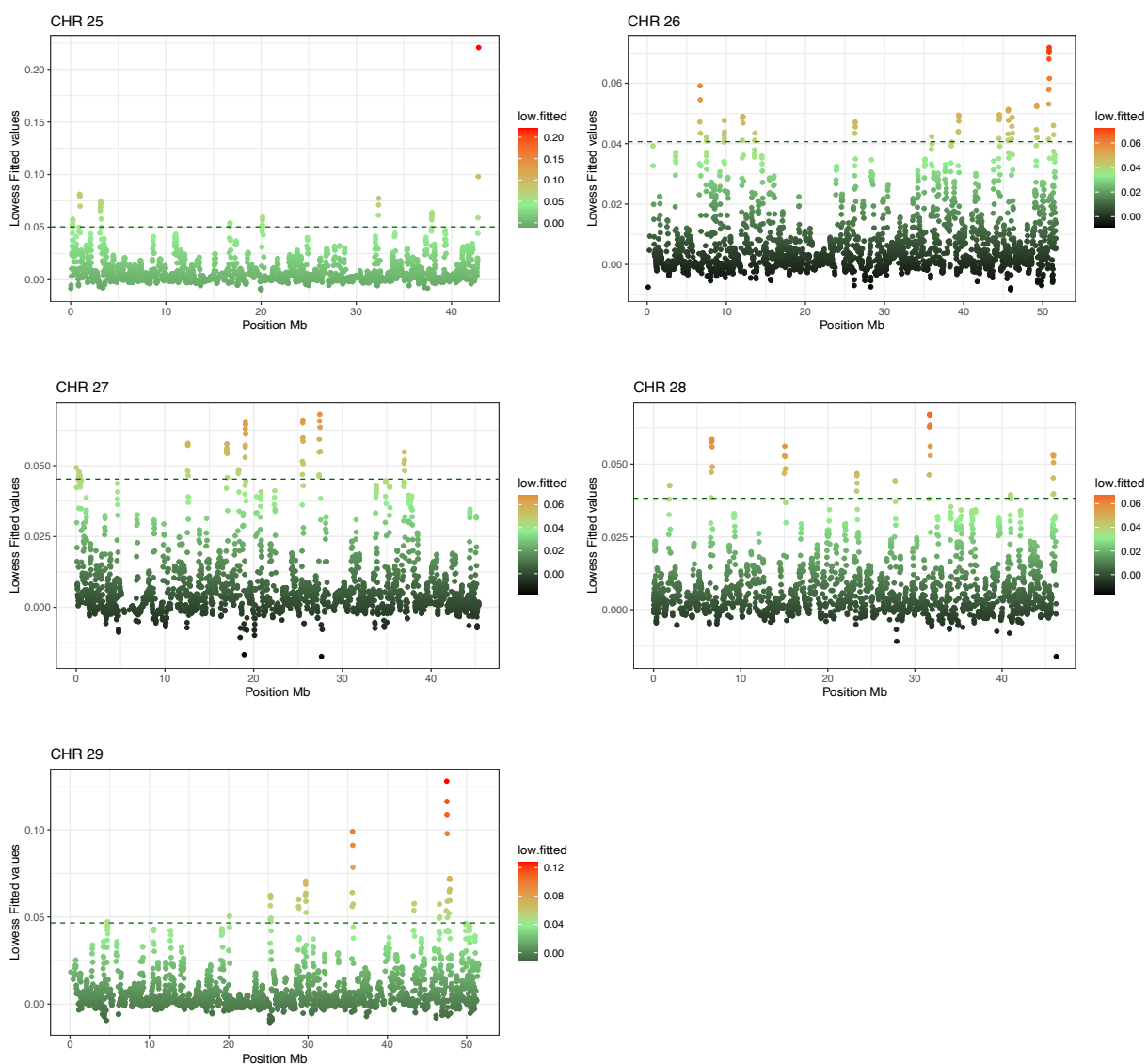


Figura 2. Risultati grafici del confronto FST tra Grigio Alpina vs Pinzgauer.

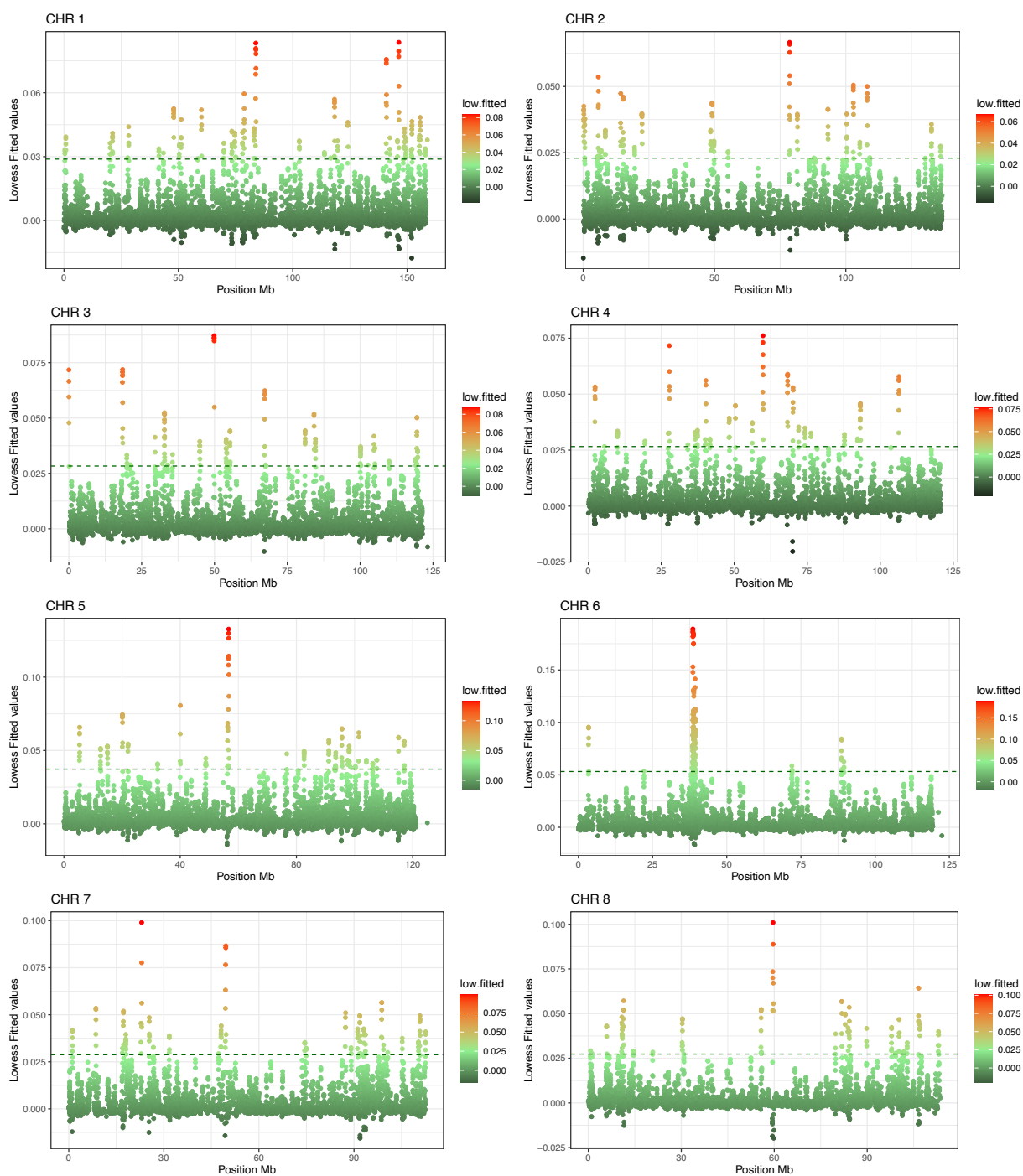


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



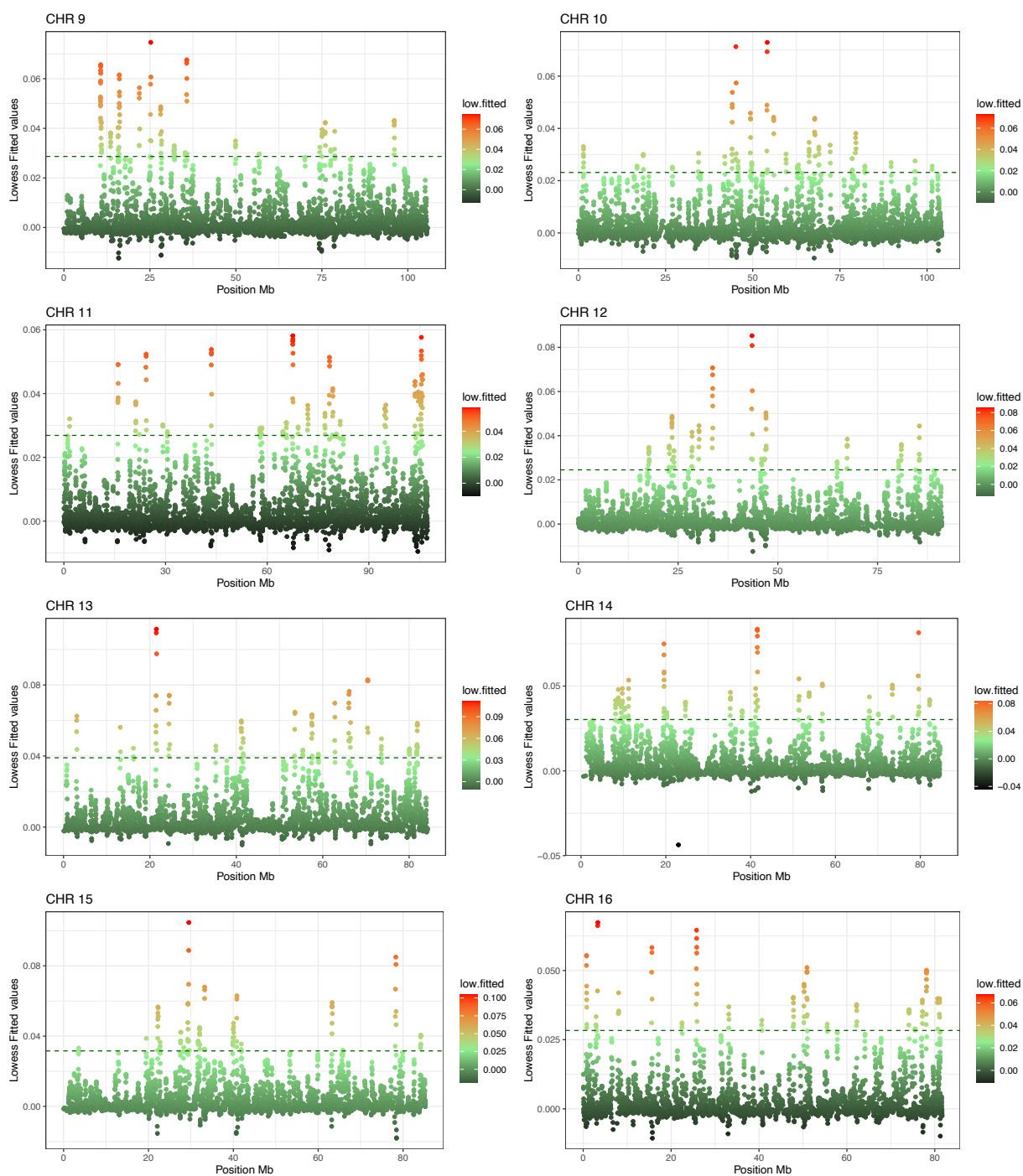


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



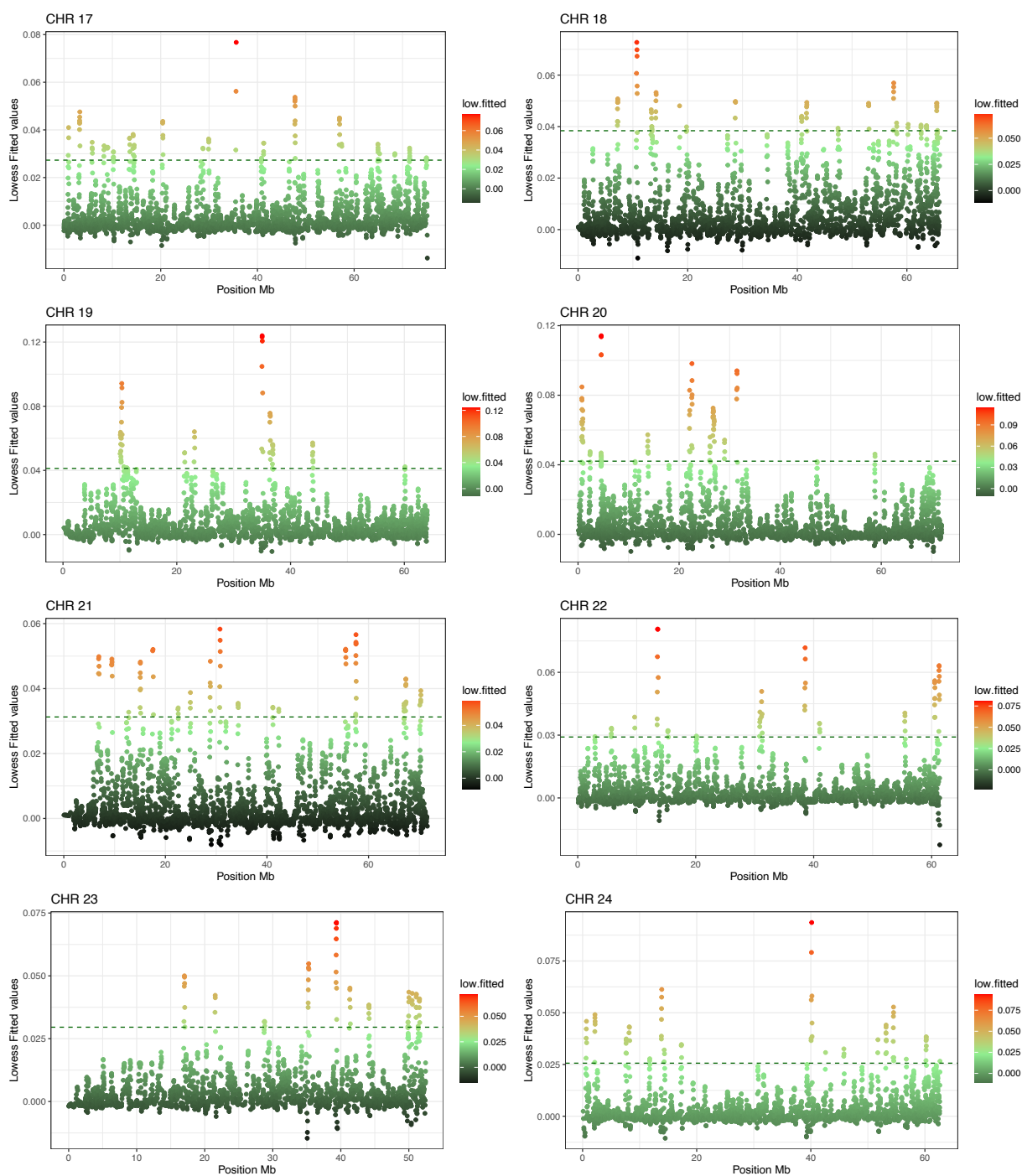


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904





Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

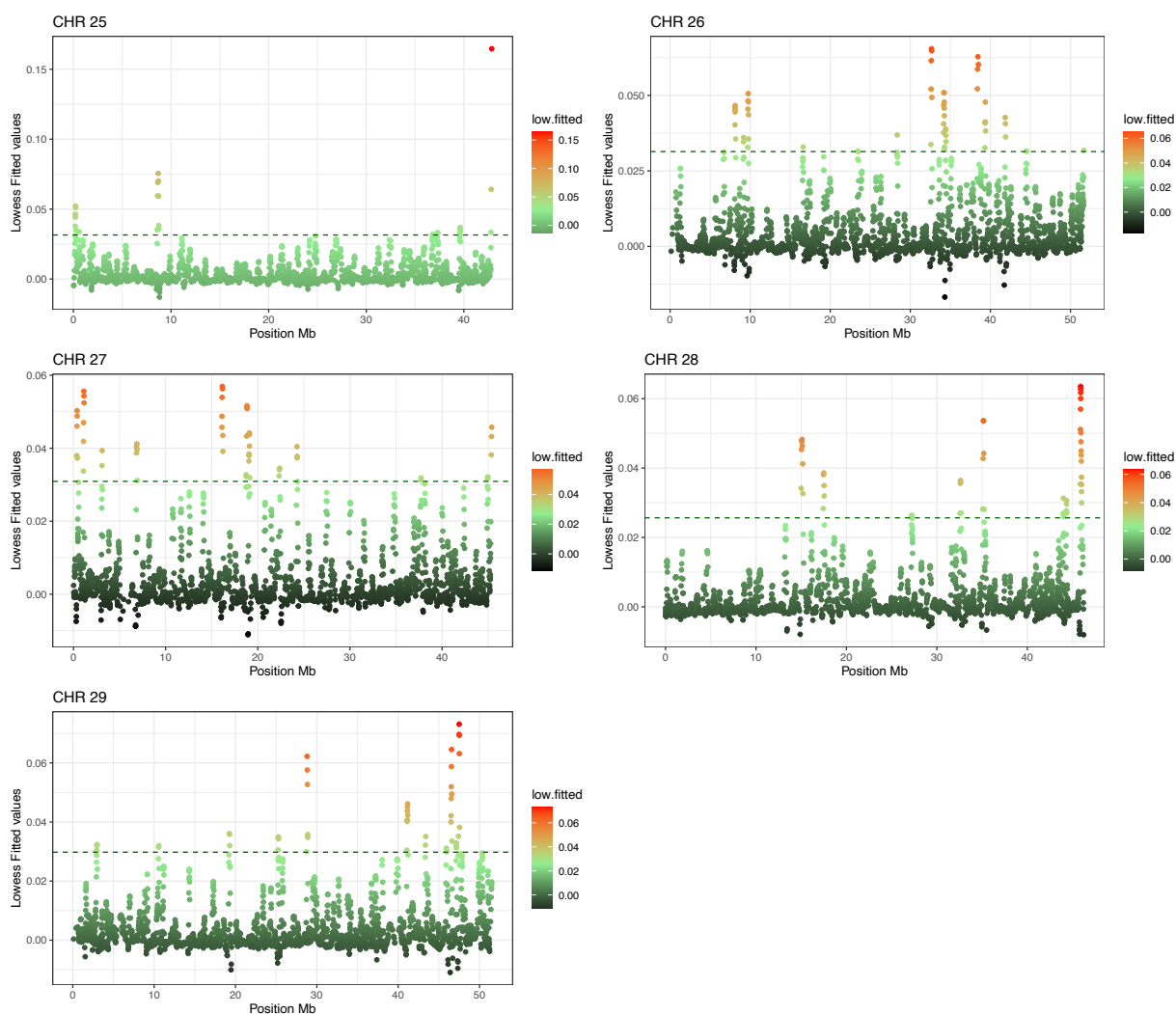


Figura 3. Risultati grafici del confronto FST tra Grigio Alpina vs Pustertaler.

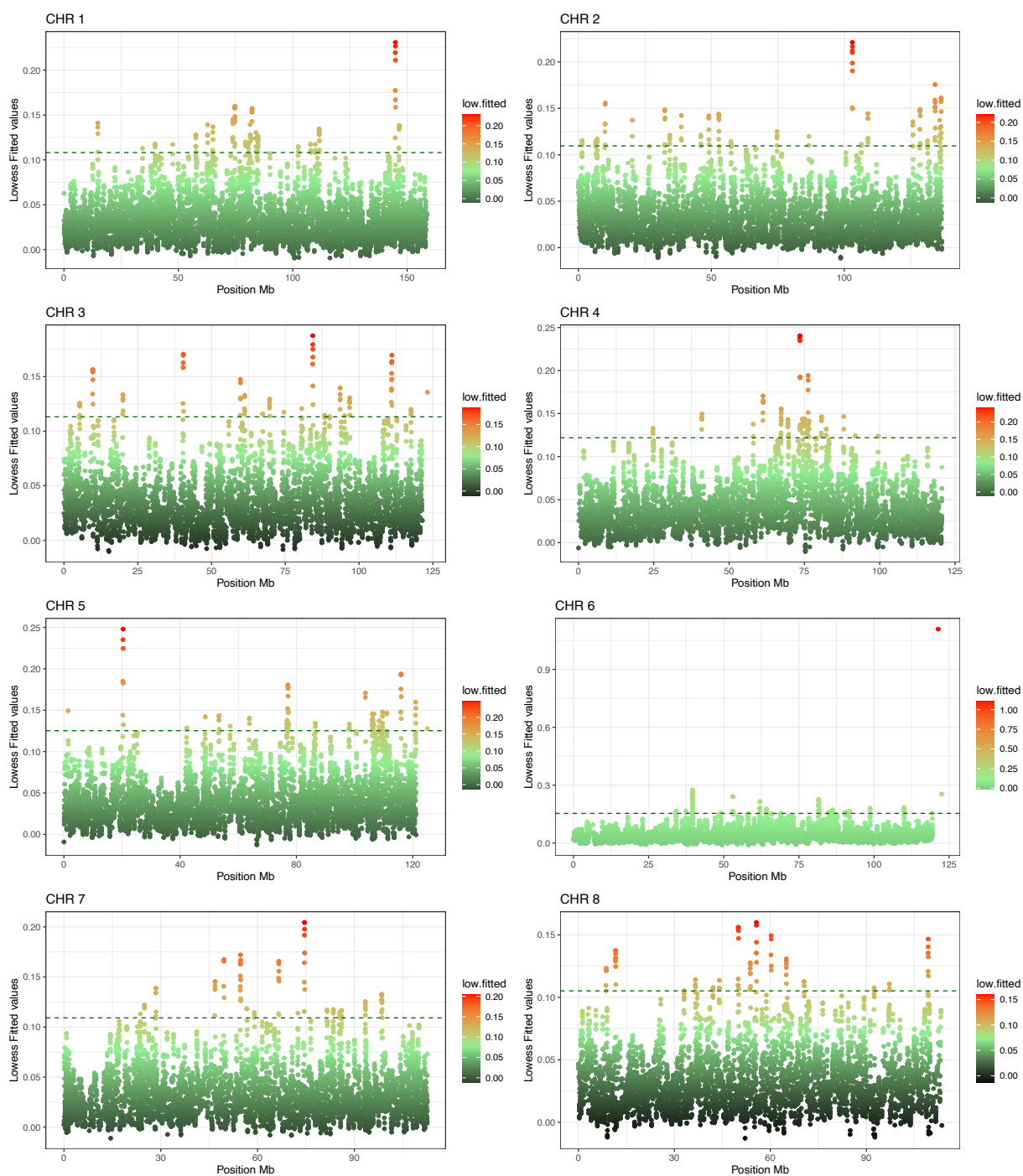


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



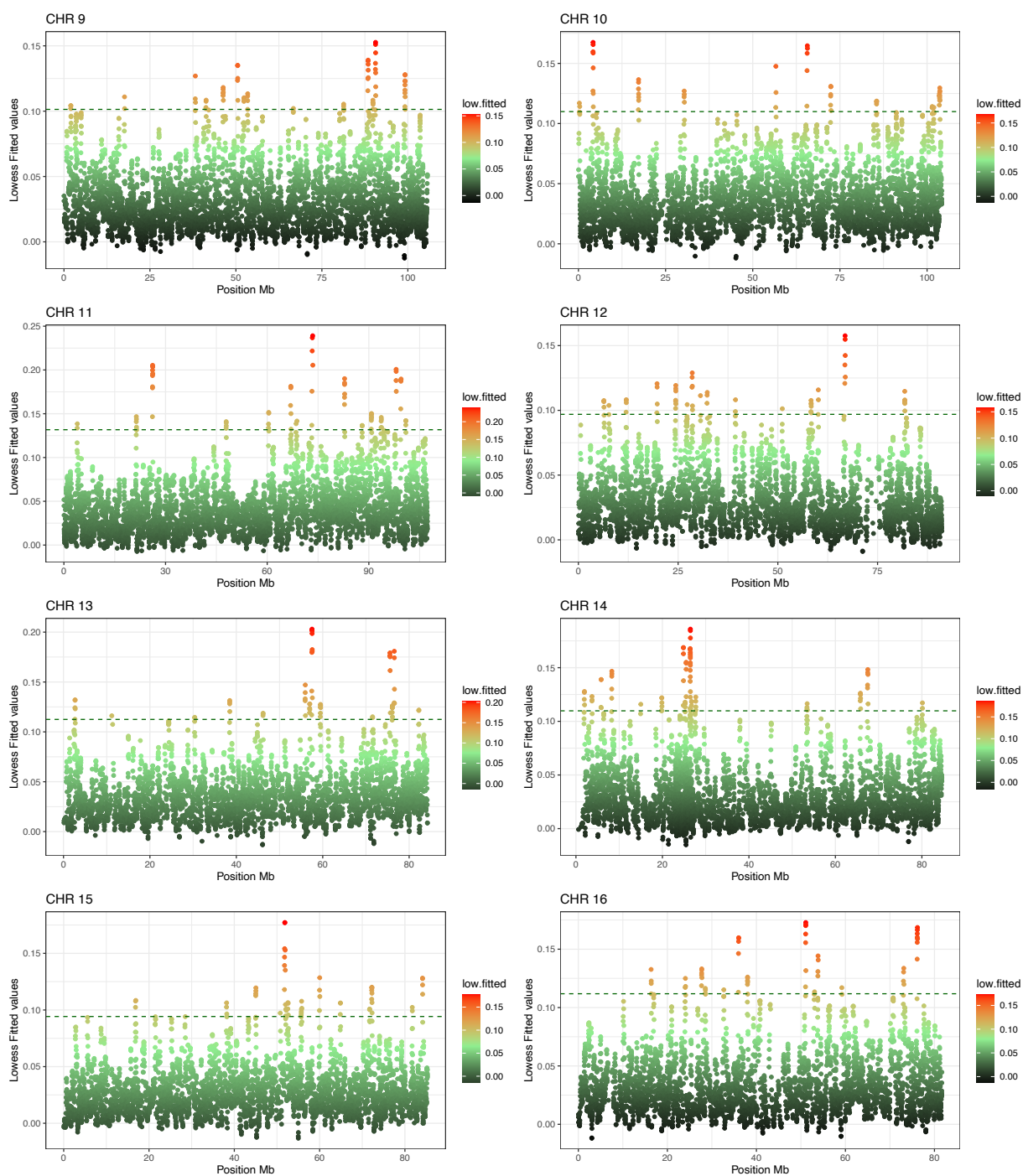


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904



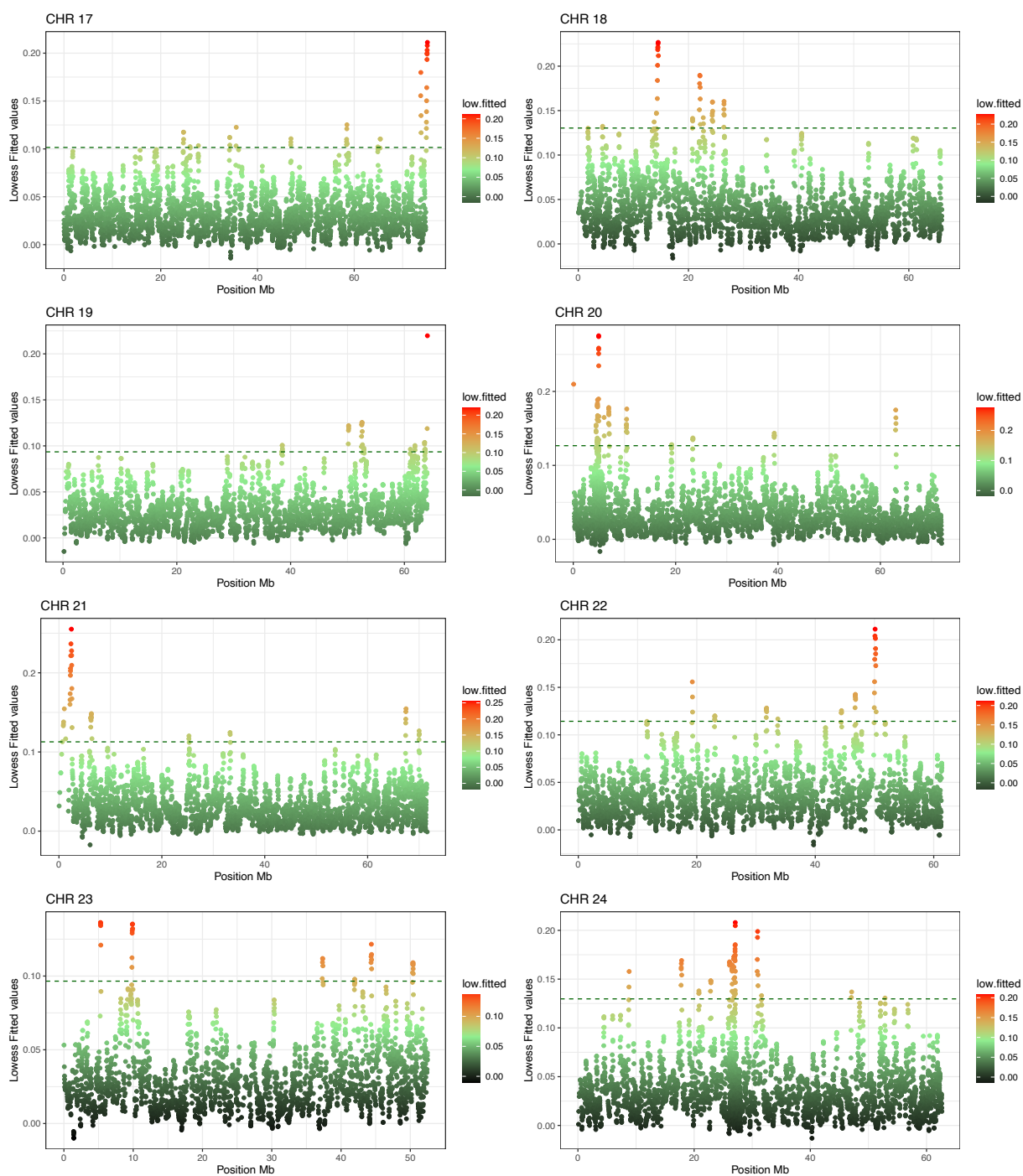


Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904





Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Agraria

Viale Italia 39, 07100 Sassari

Partita IVA 00196350904

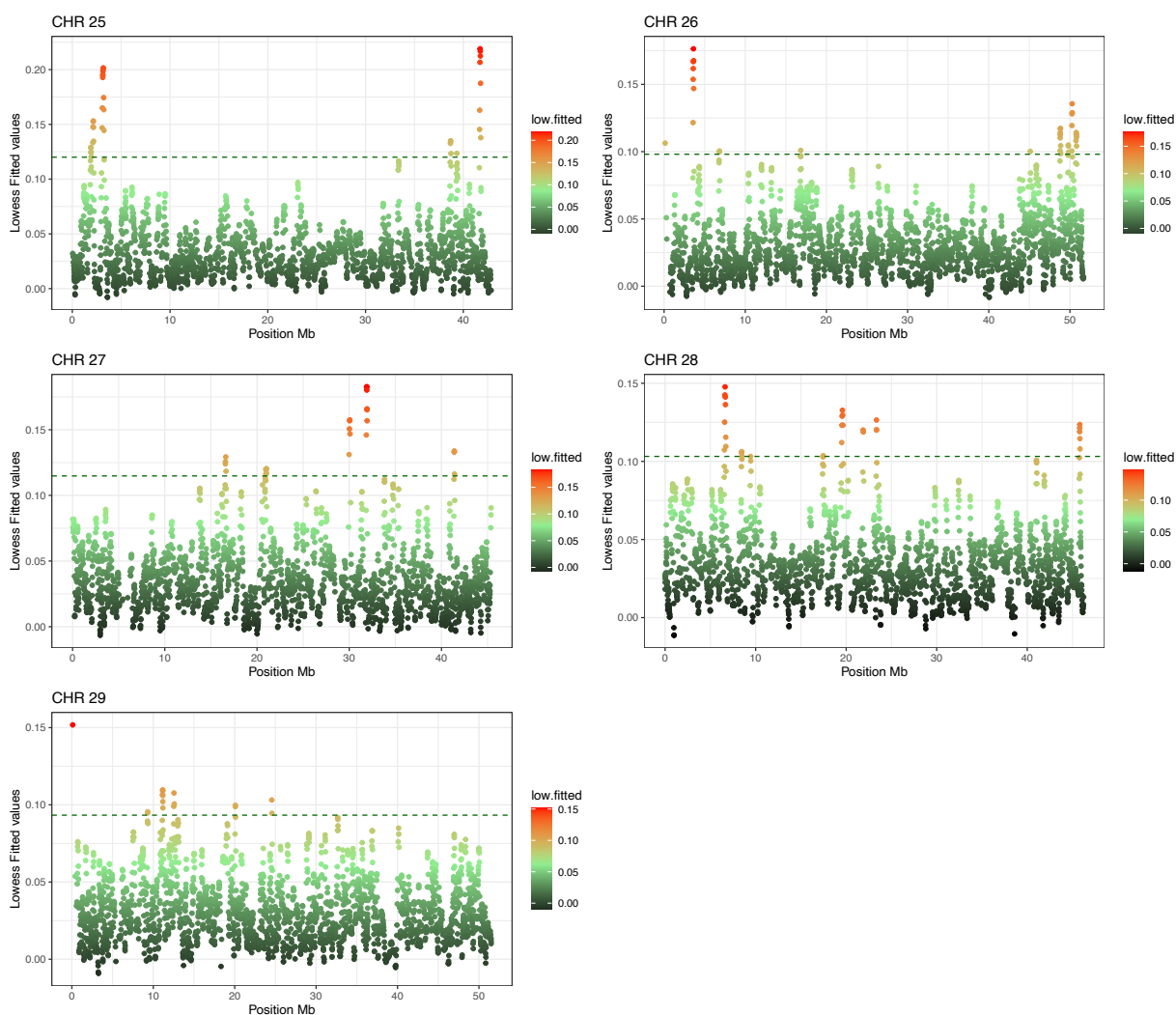


Figura 4. Risultati grafici del confronto FST tra Pinzgauer vs Pustertaler.

Il responsabile scientifico

Prof. Nicolò Pietro Paolo Macciotta