

Prospettive per il controllo genetico delle mastiti ovine

Antonello Carta¹ e Valentina Riggio²

¹Settore Genetica e Biotecnologie – AGRIS Sardegna,

²The Roslin Institute and R(D)SVS, University of Edinburgh, Scotland, UK;

Obiettivo di selezione:

È il carattere oggetto del miglioramento genetico

Gli obbiettivi economici non sono tutti misurabili con accuratezza elevata oppure comportano costi elevatissimi in normali condizioni di campo

Criterio di selezione:

Per migliorare il carattere che costituisce l'obiettivo di selezione occorre identificare un criterio di selezione cioè un carattere

- misurabile
- ereditabile
- molto correlato con l'obbiettivo

Obbiettivi e criteri per la resistenza alle malattie

Una delle difficoltà maggiori per gli studi di genetica è la

disponibilità di un criterio di selezione adeguato

Per quasi tutti i caratteri di resistenza alle patologie esiste un

problema di costo e/o precisione del fenotipo.

In medicina veterinaria spesso i fenotipi vengono raccolti con obiettivi epidemiologici e non clinici cioè per determinare prevalenze e incidenze e operare a livello di allevamento o popolazione piuttosto che individuare lo stato sanitario del singolo individuo

Sono questi fenotipi utilizzabili come criteri di selezione per il miglioramento genetico?

Criteri per la selezione della resistenza genetica alle malattie

- resistenza alle mastiti
cellule somatiche del latte
- resistenza ai nematodi gastrointestinali
conta uova nelle feci
- resistenza alla paratubercolosi
analisi sierologica

Mastiti

- Sono principalmente causate da microrganismi:
 - maggiori e minori
 - contagiosi e ambientali
- E' un fenomeno complesso influenzato sia da fattori genetici che ambientali:
 - diversi fattori coinvolti nel creare le circostanze che consentano l'ingresso dei patogeni

Mastiti

- Possono essere classificate in:
 - cliniche
 - sub-cliniche
- Incidenza negli ovini:
 - cliniche $< 5\%$
 - subcliniche 10-50%

Mastiti

La diagnosi delle mastiti:

– Cliniche:

- Sintomatologia e/o analisi batteriologica

– Sub-cliniche

- diretta
 - diagnosi dell'infezione → esame batteriologico
- indiretta
 - contenuto in cellule somatiche (CCS)

Contenuto in Cellule Somatiche (CCS)

- Le cellule somatiche si trovano normalmente nel latte
- Consistono di diverse cellule:
 - cellule epiteliali della ghiandola mammaria
 - leucociti polimorfonucleati
 - linfociti
 - etc.

Mastiti e Cellule Somatiche

Obiettivi:

- aumento della resistenza alle mastiti cliniche
- aumento della resistenza alle mastiti subcliniche.

Quali relazioni tra obiettivi?

Misure ideali:

- Diagnosi clinica e/o batteriologica per le mastiti cliniche
- Analisi batteriologica per le mastiti sub-cliniche

Criterio proposto: contenuto in cellule somatiche

Ovini: approccio classico

(modello genetico infinitesimale)

- **caratteri quantitativi** (*variabilità continua; genotipo + ambiente*)
- **variabilità genetica:** poligenica additiva
- **numero elevato di geni** diffusi in tutto il genoma, ciascuno con effetto infinitesimale

Ovini: limiti approccio classico

- **Processo “cieco”**: nessuna conoscenza geni, alleli, frequenze, effetti e localizzazione e dunque nessuna possibilità di monitorare e conservare la variabilità genetica
- **Numero elevato di misure individuali**

CCS come criterio di selezione?

- Numerosi vantaggi rispetto al carattere diretto:
 - più facile da misurare
 - maggiormente ereditabile
- Non essendo normalmente distribuito →
trasformazione logaritmica in SCS

$$SCS = \log_2(SCC/100) + 3 \text{ (Ali and Shook, 1980)}$$

CCS come criterio di selezione?

- CCS di individui sani e infetti analizzati come unico carattere
- In realtà hanno una distribuzione diversa

J. Dairy Sci. 92:1253–1264

doi:10.3168/jds.2007-0824

© American Dairy Science Association, 2009.

Characterization of distributions of somatic cell counts

J. ten Napel,^{*1} Y. de Haas,^{†*} G. de Jong,[†] T. J. G. M. Lam,[‡] W. Ouweltjes,^{*} and J. J. Windig^{*}

^{*}Animal Sciences Group, Wageningen UR, PO Box 65, 8200 AB Lelystad, the Netherlands

[†]NRS Animal Evaluation Unit, PO Box 454, 6800 AL Arnhem, the Netherlands

[‡]GD Animal Health Service, PO Box 9, 7400 AA Deventer, the Netherlands

Riggio et al. *Genetics Selection Evolution* 2010, **42**:30
<http://www.gsejournal.org/content/42/1/30>

GSE Genetics
Selection
Evolution

RESEARCH

Open Access

Genetic parameters for somatic cell score according to udder infection status in Valle del Belice dairy sheep and impact of imperfect diagnosis of infection

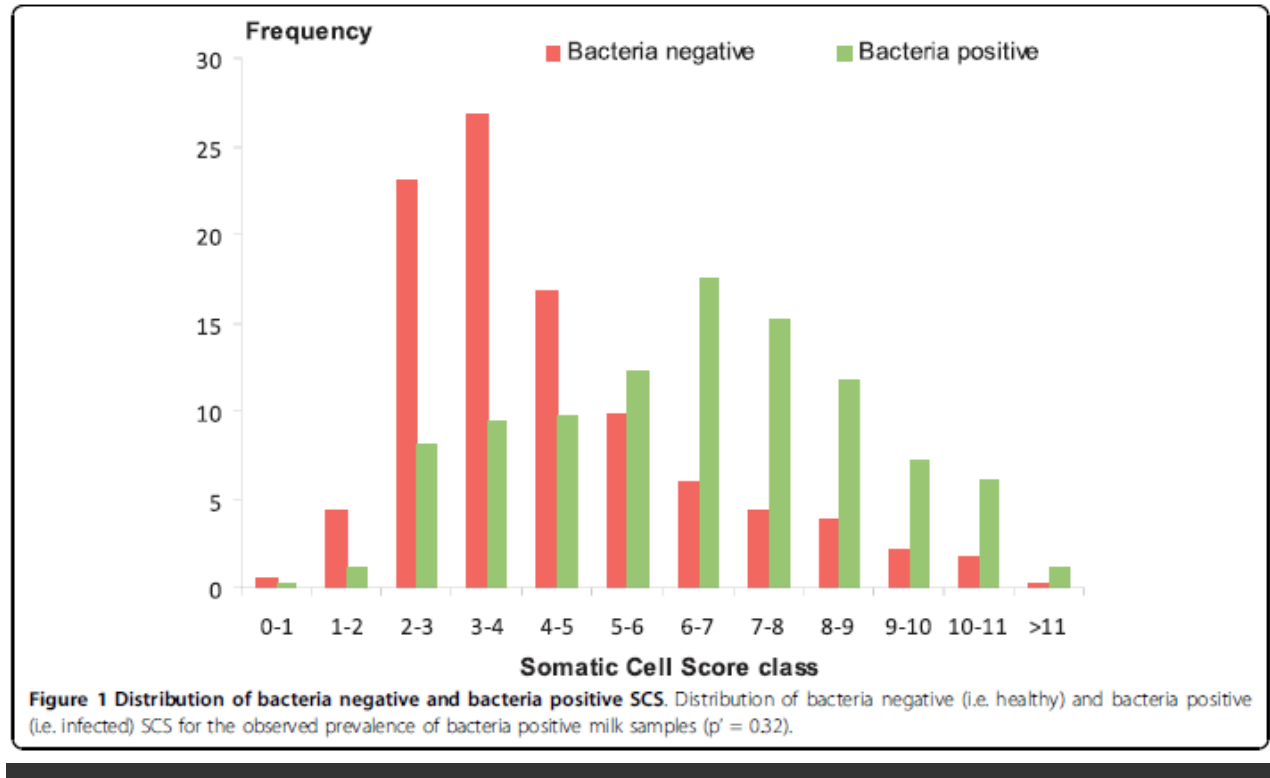
Valentina Riggio^{1,2*}, Baldassare Portolano¹, Henk Bovenhuis², Stephen C. Bishop³

Agris

Settore:
Genetica e Biotecnologie

REGIONE
AUTONOMA
DELLA SARDEGNA

CCS come criterio di selezione?



- SCS in sani e infetti diversi valori di ereditabilità
- Correlazione genetica di 0.62
- Correlazione genetica SCS sani-stato sanitario 0.51

CCS come criterio di selezione?

J. Dairy Sci. 92:1203–1219

doi:10.3168/jds.2008-1435

© American Dairy Science Association, 2009.

Response to somatic cell count-based selection for mastitis resistance in a divergent selection experiment in sheep

R. Rupp,^{*†} D. Bergonier,^{†‡} S. Dion,^{*} M. C. Hygonenq,^{†‡} M. R. Aurel,[§] C. Robert-Granié,^{*} and G. Foucras^{†‡}

^{*}Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), U 631, F-31326 Castanet-Tolosan, France

[†]INRA, Unité Mixte de Recherche (UMR) 1225, F-31076 Toulouse, France

[‡]Université de Toulouse, École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), UMR 1225, F-31076 Toulouse, France

[§]INRA, UE 321, F-12250 Roquefort, France

- Animali con basso SCS:
 - incidenza + bassa di mastiti cliniche
 - migliore abilità a reagire ad un'infezione intramammaria

CCS come criterio di selezione?

- ereditabilità SCS:
 - 0.04-0.16 con modelli test-day
 - 0.11-0.15 con modelli a lattazione
 - h^2 per SCS generalmente + alta di quella per il carattere diretto
- Non esiste una soglia universalmente riconosciuta:
 - livelli di CCS normalmente + elevati, anche se sani
 - CCS non considerato per prezzo latte

.....e nei bovini?

- ereditabilità SCS:
 - 0.05-0.14 con modelli test-day
 - 0.10-0.18 con modelli a lattazione
- Soglia di CCS universalmente riconosciuta
- Effetto del livello di CCS sull'eliminazione degli individui:
 - Un alto valore di CCS è associato con ridotta longevità
- Correlazione tra CCS e mastiti $\rightarrow \sim 0.7$

CCS come criterio di selezione

- Altri aspetti da considerare:
 - correlazioni con caratteri produttivi non coerenti
 - info mancanti su correlazione con mastiti
 - selezione attuale basata su *own performance* ed entro allevamento
 - difficile che selezione per resistenza alle mastiti possa essere efficace

.....e negli ovini in Italia?

- Solo per la razza Sarda si misura il CCS in prima lattazione con metodi semplificati
- Nessuna selezione genetica

Quale evoluzione?

- Costo della misurazione dei fenotipi (personale)
- Apporto pubblico alla selezione
- Costi delle applicazione della genetica molecolare (DNA - chip technology)



Può la genomica superare i limiti del fenotipo nella selezione per la resistenza alle malattie?

Applicazioni possibili della genetica molecolare nel miglioramento genetico

Studi di associazione con i caratteri di interesse zootecnico

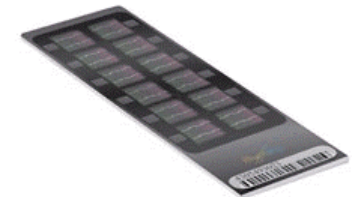
Selezione assistita da marcatori (**MAS**)

Selezione assistita da geni (**GAS**)

Genomic selection

Ovini

- ❖ 50K dal 2009
- ❖ HD solo consorzio
- ❖ 200-3000 (chip custom)





Agris

Agenzia regionale
per la ricerca in agricoltura



Institut National de la Recherche Agronomique



La ricerca si fa impresa.



universidad
de león

3SR è un progetto **finanziato dalla Commissione Europa** (3.000.000 euro) nell'ambito del **7° FP** che coinvolge un **consorzio internazionale di 14 partners** per contribuire, attraverso le informazioni genomiche sugli ovini e caprini, alla comprensione delle basi genetiche dei caratteri che stanno alla base di una produzione sostenibile e della sanità degli animali e dei prodotti da essi derivati e fornire strumenti per il loro miglioramento.



AGRICULTURE AND FOOD DEVELOPMENT AUTHORITY



Knowledge
Transfer
Network

Biosciences



Agris

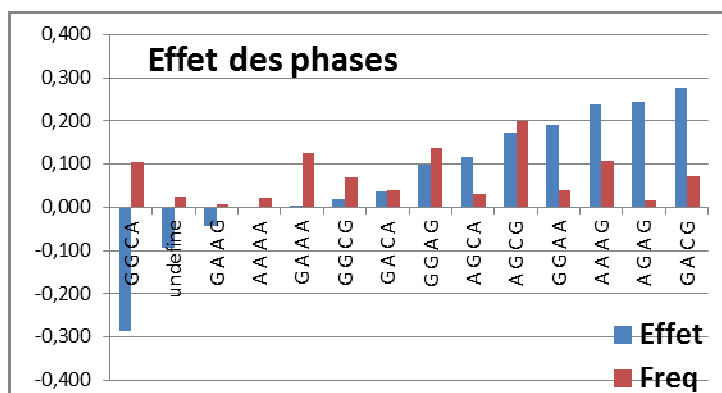
Settore:
Genetica e Biotecnologie

REGIONE
AUTONOMA
DELLA SARDEGNA

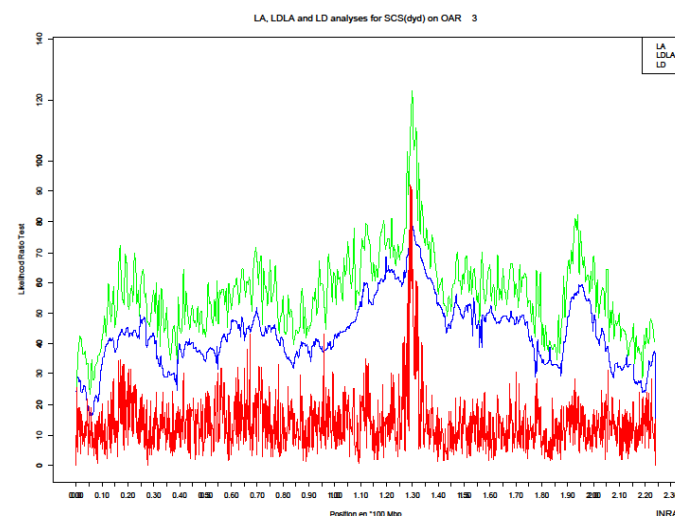
Risultati 3SR

- Popolazione Lacaune (INRA): conferma di OAR3

QTL su OAR3 (LA, LDDLA, LD)



Contrasto degli effetti degli aplotipi



- Popolazione Lacaune (INRA)
 - Trio sequencing: scelta su aplotipi di 4-SNP

1 padre segregante



Padre -/+
Index SCS= -0,9
(Cd=0,97)

2 discendenza



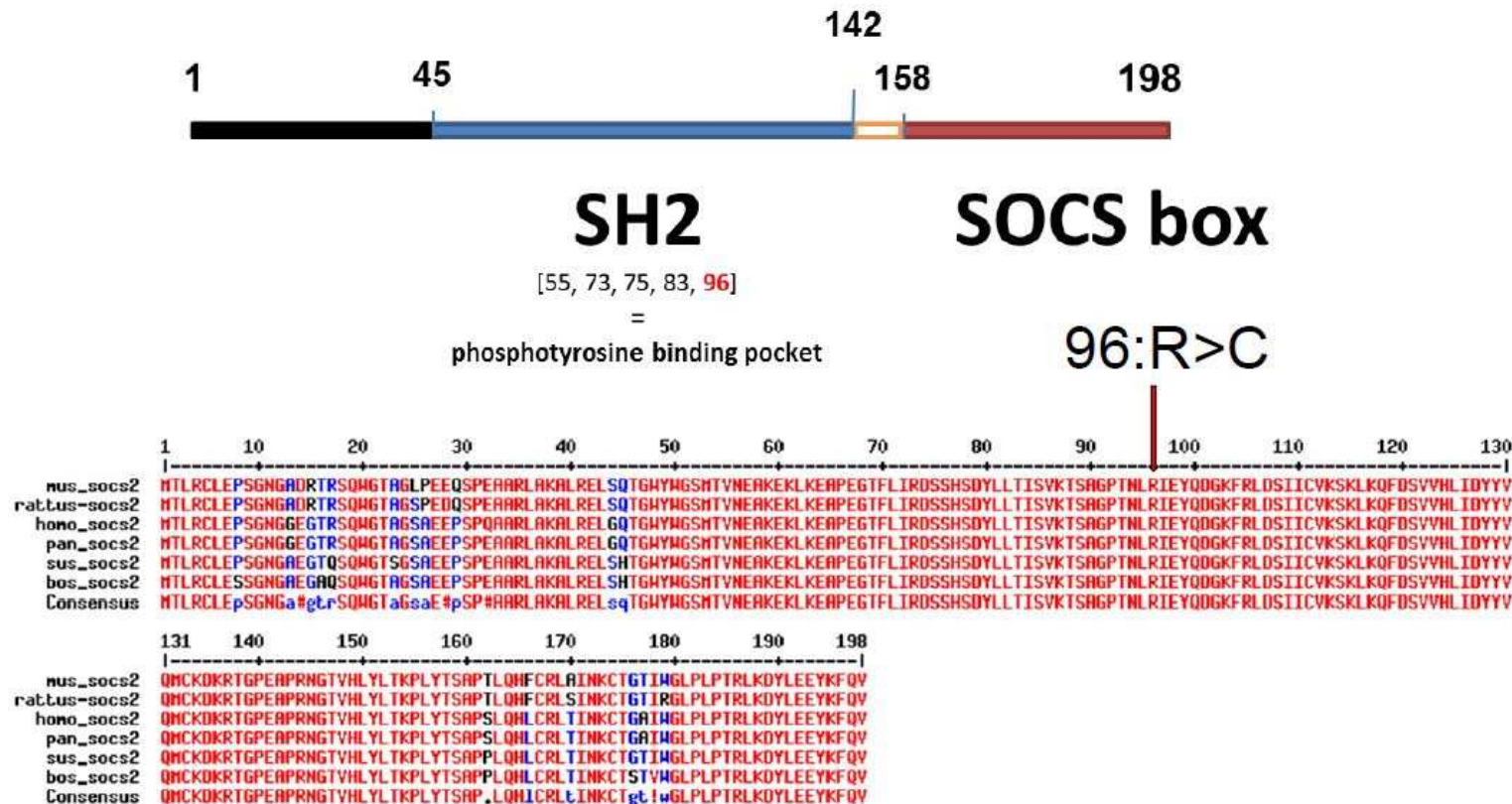
Padre -/-
Index SCS= -1,65
(CD=0,91)



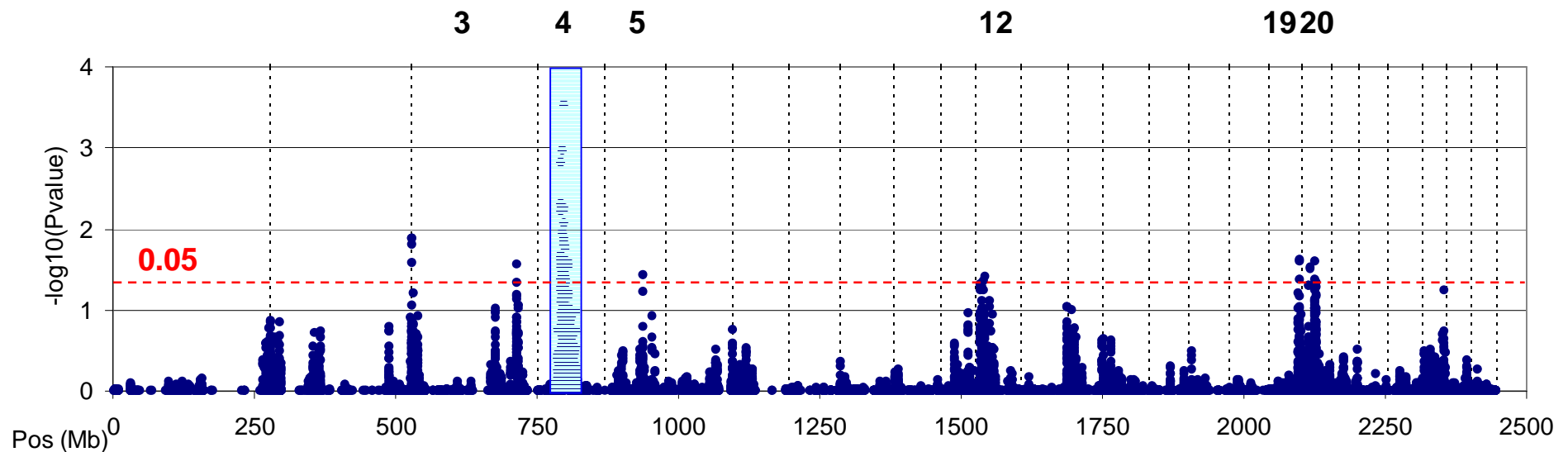
Padre +/+
Index SCS= 0,0
(CD=0,75)

- Pop. Lacaune (INRA)

SOCS2 (and R96) is highly conserved among species



Regioni del genoma associate con CCS nella razza Sarda



Popolazione razza Sarda (AGRIS): SCS

OAR	SNP	Flanking SNPs (upstream)	Flanking SNPs (downstream)	Loc (Mb)	LAF1	LASA	LDSA	LDLASA
1	s18847.1	OAR1_288234747.1-s44642.1	s41074.1-s29532.1	267.18	0.0125	0.1575	0.4052	0.2519
2	s04405.1	OAR2_217785599.1-OAR2_217794314.1	OAR2_218076916.1-OAR2_218241732.1	206.74	0.0322		0.1389	0.1847
3	OAR3_4826522_X.1	OAR3_4733096.1-s42825.1	s12606.1-s56188.1	4.40		0.063		0.0133
3	OAR3_204389854.1	s64637.1-OAR3_204344215.1	s73784.1-OAR3_204508392.1	189.57	0.0456	0.0015		0.0278
4	s25687.1	OAR4_50346558.1-OAR4_50370017.1	OAR4_50483750.1-OAR4_50513317.1	46.99		0.0788		0.0003
4	OAR4_60654041.1	OAR4_60595625.1-s66951.1	OAR4_60660706.1-s48822.1	56.74	0.2523	0.017		0.0270
5	OAR5_74890725.1	OAR5_74765699.1-OAR5_74822290.1	s28590.1-s62414.1	68.69				0.0377
9	OAR9_23297968_X.1	s10007.1-OAR9_23266661.1	OAR9_23311712.1-OAR9_23317567.1	22.29	0.0080			
12	OAR12_21699429.1	OAR12_21583285.1-OAR12_21638552.1	s03040.1-s07244.1	18.43	0.213	0.134		
12	OAR12_28044231.1	OAR12_27942218.1-OAR12_27981172.1	OAR12_28076138.1-OAR12_28120988.1	24.24	0.0445	0.1497		0.0793
15	OAR15_2525103.1	OAR15_2382390.1-OAR15_2478107.1	s61974.1-OAR15_2612028.1	3.04	0.0051	0.0517		0.2339
15	OAR15_67917342.1	OAR15_67653133.1-OAR15_67681322.1	s05923.1-s58642.1	62.42	0.0084	0.0857		
19	OAR19_14430440.1	OAR19_14298113.1-OAR19_14315061.1	OAR19_14489436.1-s46228.1	13.93			0.0103	
19	s73960.1	OAR19_39280393.1-s57682.1	OAR19_39442752.1-OAR19_39499194.1	37.73	0.0041		0.0257	
19	OAR19_59904806.1	s08031.1-s73069.1	s22636.1-s31258.1	56.70			0.0109	0.0241
20	OAR20_14550082.1	OAR20_14349814.1-OAR20_14493721.1	s22096.1-s57095.1	13.80	0.153	0.03		0.0257
20	OAR20_25029391.1	OAR20_24966073.1-s18014.1	OAR20_25096640.1-s75359.1	23.75	0.0088	0.0456	0.0701	0.0257
21	s28686.1	OAR21_51137595.1-s03636.1	OAR21_51573258.1-s49922.1	44.79	0.0412	0.0721		0.3064
22	s00793.1	OAR22_40160139.1-OAR22_40197865.1	s45145.1-OAR22_40366107.1	35.64	0.2031		0.0241	
24	s27930.1	s12995.1-s50307.1	OAR24_8989305.1-OAR24_9019723.1	7.76	0.2206		0.0372	
24	OAR24_26374323.1	s36966.1-s12637.1	s39918.1-DU366503_110.1	23.81	0.0237	0.3184		0.3944
24	s59335.1	s75375.1-OAR24_35315373.1	s49066.1-s39500.1	32.35	0.0247	0.0716		0.0576

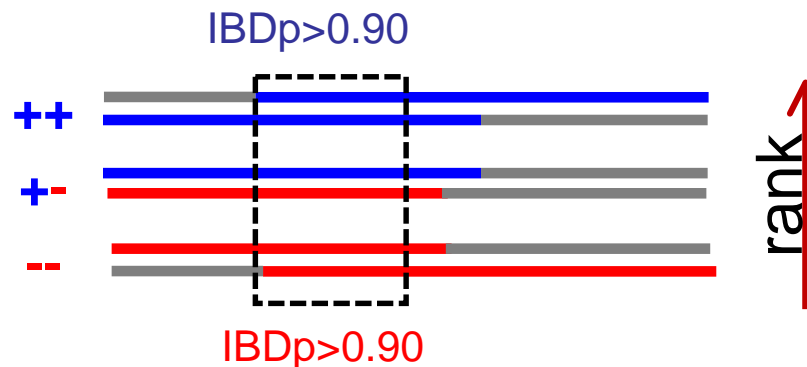
Popolazione razza Sarda (AGRIS): SCS

Risequenziamento

La regione sul cromosoma 4 è attualmente investigata attraverso la sequenza completa di una tripletta di animali

$$\text{Max} (\alpha_{H+} - \alpha_{H-})$$

$$\text{IBDp} (H+, H-) = 0.00$$



Trait	OAR	Loc. (Mb)	P-value	Contrast (s.d.u)	Segment length (bp)	SNP ++; +-; --
CCS	4	47.74	0.0003	0.498	584,716	1,351

Possibili strategie derivanti dalle applicazioni di genetica molecolare

MAS: analisi genetiche dei riproduttori per marcatori in LD che individuano portatori mutazione causale positiva

GAS: analisi genetiche dei riproduttori per la mutazione causale

GS: calcolo degli indici genomici sulla base di misure fenotipiche realizzate su una porzione ridotta ma rappresentativa della popolazione

Marcatori LD, mutazioni causali e indici genomici devono essere confermati su fenotipi accurati e/o su criteri più correlati delle CCS?

Potenziale evoluzione dello schema di selezione della razza Sarda

