

Azione 8: Banche di materiale biologico e germoplasma.

L'azione 8 prevede la creazione di una biobanca maschile e femminile nella bufala Mediterranea Italiana e la raccolta dei campioni biologici da destinare ad ulteriori analisi nelle altre azioni. Sebbene nel primo step dell'Azione 8 fossero previsti soltanto i campionamenti del materiale biologico necessari per la genotipizzazione del primo gruppo di soggetti nello step II, alcune delle attività e dei campionamenti previste nello step successivo sono iniziate, approfittando del periodo di prolungamento delle attività progettuali e per semplificare il raggiungimento dell'obiettivo progettuale previsto nello step II.

Raccolta di campioni biologici

Nell'ambito delle attività del II step portate avanti nel Task 8.1. sono stati raccolti campioni biologici da n. 1.252 soggetti, utilizzando sistemi non invasivi e a minimo stress.

Campionamento di materiale biologico in stazione controllato

Altri campioni biologici sono stati raccolti all'interno delle aziende pilota e saranno analizzati nel task 5 del progetto BIG per la valutazione di fenotipi innovativi. In accordo con quanto stabilito nel primo step del progetto la scelta degli animali da campionare è stata effettuata inserendo i seguenti parametri: data parto, ordine di parto, produzioni, previsione parto, eventuale deposito del DNA, matricola Madre e Padre, padre da monta naturale (MN) o fecondazione artificiale (FA).

Nell'ambito delle attività di campionamento del II step sono stati prelevati:

- ✓ N. 200 campioni di latte (per la valutazione di potere antiossidante);
- ✓ N. 200 campioni di latte (per la valutazione delle caratteristiche di caseificazione)
- ✓ N. 200 campioni di sangue (per la valutazione di profilo metabolico);
- ✓ N. 8 campioni di sangue (per la valutazione del cariotipo);
- ✓ N. 9 campioni di succo ruminale per la valutazione del microbiota (valutazione dell'efficienza alimentare);
- ✓ N. 80 campioni di razione somministrata (per la valutazione dell'efficienza alimentare);
- ✓ N. 80 campioni di feci dall'ampolla rettale (per la valutazione dell'efficienza alimentare);
- ✓ N. 200 fenotipi per la misura circonferenza addominale (valutazione dell'impatto ambientale).

Il liquido ruminale è stato prelevato in sede di macellazione degli animali e stoccato a -80°C. Il latte raccolto in provette addizionate con bronopol è stato conservato a -20° presso il Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali di UNINA, mentre i campioni di sangue sono stati centrifugati a 2000 g e siero e plasma sono stati stoccati a -80. Le feci sono state sottoposte ad essiccazione a 65°C e congelate, mentre il pelo per la genotipizzazione è stato conservato a temperatura ambiente presso la sede dell'ANASB.

Produzione di embrioni per la conservazione di linea genetica rare

Nell'ambito del Task 8.3 è iniziata l'attività di creazione di una biobanca femminile e maschile. Per quanto concerne la produzione di embrioni di bufala Mediterranea Italiana, sono stati selezionati 15 soggetti, che sono stati sottoposti alla tecnica Ovum Pick-up associata alla produzione embrionale in vitro (IVEP). Brevemente, la tecnica OPU consiste nel recupero di oociti immaturi da animali vivi per via transvaginale attraverso puntura follicolare eco guidata: di conseguenza può essere considerata una tecnica non invasiva e ripetibile. Il prelievo degli oociti immaturi può essere effettuato una o due volte alla settimana, per tempi anche medio-lunghi, senza effetti negativi sulla fertilità degli animali. Questa tecnica risulta competitiva rispetto alla MOET particolarmente nella specie bufalina. Infatti, se da un lato per ogni OPU effettuato si producono in media nella bovina 0.8 e nella bufala 0.2 embrioni da donatrici adulte rispetto ai 4.4 ed 1.7 ottenibili nell'ambito di un programma di MOET, dall'altro, quest'ultimo non può essere ripetuto prima che siano trascorsi almeno 75 giorni per la bovina e 100 per la bufala. Ovviamente, non va dimenticato che sebbene l'efficienza di recupero nella bufala sia simile a quella che si riscontra nella bovina, il numero di oociti recuperati risulta nettamente inferiore per la diversa entità della popolazione follicolare che contraddistingue le due specie. La tecnica OPU, quindi, apre nuove prospettive consentendo di incrementare ulteriormente l'efficienza riproduttiva della specie. Inoltre, la possibilità di utilizzare tale tecnica su animali di elevato valore produttivo, si traduce in una notevole riduzione dell'intervallo generazionale e, conseguentemente, in un'ulteriore accelerazione del progresso genetico. Una volta prelevati gli oociti, devono essere preparati per la produzione embrionale in vitro (IVEP). Tuttavia, tra i fattori più limitanti l'impiego della tecnica OPU/IVEP, va annoverato lo scarso numero di embrioni/capo e soprattutto la enorme variabilità nella risposta: molto spesso è possibile recuperare oociti che abbiano competenza allo sviluppo (e che quindi possano svilupparsi in embrioni) in meno del 50% degli animali sottoposti al trattamento. Per tali motivi è consigliabile sottoporre inizialmente ad OPU un maggior numero di soggetti. Nello specifico, dei 15 soggetti selezionati per questa attività, solo 10 hanno prodotto embrioni. Al contempo, sono stati individuati 4 soggetti di sesso maschile, che sono stati utilizzati per la produzione di seme. Su questi sono state valutate le caratteristiche qualitative del seme fresco e post-scongelamento.

Creazione di una biobanca di materiale germinale maschile

Infine, nel Task 8.4 sono stati selezionati 20 soggetti da cui sono state prelevate n° 5-10 dosi/toro che sono state stoccate per la creazione della biobanca, il materiale seminale disponibile è stato selezionato attraverso analisi di pedigree in funzione delle famiglie con la massima rappresentazione di tutte le linee genetiche nella popolazione BMI.