

MONITORAGGIO DELLA DIVERSITÀ GENETICA NELLA BUFALA MEDITERRANEA ITALIANA

INTRODUZIONE

La Bufala Mediterranea Italiana costituisce parte del patrimonio storico e culturale del Paese e la sua salvaguardia è una priorità indiscutibile. Pertanto, la corretta gestione della sua diversità genetica è essenziale per la sua sostenibilità (UNEP, 1992). Secondo Gama (2002) la caratterizzazione di un sistema produttivo, compresa la profonda conoscenza della struttura demografica, deve essere effettuata in qualsiasi programma di miglioramento genetico. Conoscere la struttura di una popolazione, la sua variabilità e flusso genico, sono necessari all'interno di qualsiasi programma di selezione, inoltre l'analisi demografica evidenzia le circostanze che influenzano la popolazione (Valera et al., 2005).

Durante l'evoluzione, fenomeni come la mutazione, l'adattamento, l'isolamento riproduttivo, la deriva casuale, la selezione e la riproduzione hanno creato una grande diversità nella specie *Bubalus Bubalis*. La razza ha attraversato un cambiamento sostanziale negli ultimi decenni, diventando una razza da latte ad alto rendimento, aspetto che potrebbe aver causato un'eventuale erosione genetica della popolazione (Groeneveld et al., 2010). Tuttavia, la caratteristica di interesse futuro è cercare di mantenere la diversità genetica delle razze adattate ad un particolare sistema (**resilienza**) e implementare la successiva riproduzione di tali soggetti (Notter, 1999). La diversità genetica delle specie animali da reddito come bovini, bufali, maiali, pecore, capre, cammelli e polli è stata ampiamente studiata (Zhang et al., 2007, Carolino and Gama, 2008, Cervantes et al., 2008, Gómez et al., 2011, Rochus et al., 2020, Vohra et al., 2021), sia attraverso l'utilizzo delle informazioni di pedigree che dei marcatori molecolari, quali i microsatelliti. La caratterizzazione delle risorse genetiche animali richiede una conoscenza approfondita della distribuzione geografica, nonché l'identificazione di caratteristiche peculiari, la dimensione e la struttura della popolazione, l'ambiente di produzione e la diversità genetica. Pertanto, il monitoraggio della diversità genetica viene effettuata valutando l'evoluzione del grado di consanguineità e delle relazioni di parentela nella

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big-anasb.it



FEASR
Fondo europeo agricolo
per lo Sviluppo Rurale:
"L'Europa investe nelle zone rurali"

Progetto finanziato nell'ambito
della Sottomisura 10.2 - PSRN 2014/2020
Autorità di gestione:
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale
Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare e delle foreste

Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare
e delle foreste

popolazione di interesse (Wright, 1922) e in questo contesto la dimensione effettiva della popolazione è un buon indicatore del rischio di erosione genetica (FAO, 1998). Tuttavia, i parametri relativi alla consanguineità dipendono dall'integrità e dalla veridicità delle informazioni genealogiche e dai cambiamenti nella consanguineità dovuti alle diverse pratiche di crossing, che comportano cambiamenti che hanno effetti non immediati sugli individui (Carolino and Gama, 2008). Queste informazioni consentono quindi di prendere decisioni in merito alla gestione genetica (Vicente et al., 2012, Medeiros et al., 2014).

Diversi studi sulla diversità genetica delle popolazioni di bufali d'acqua sono stati condotti in tutto il mondo, soprattutto utilizzando informazioni provenienti da dati molecolari (microsatelliti, SNP) (Kataria (Kataria et al., 2009, Ángel-Marín et al., 2010, Gargani et al., 2010, Mekkawy et al., 2012, Özkan Ünal et al., 2014, Vohra et al., 2017, Khade et al., 2020). Per quanto detto è evidente l'importanza del monitoraggio dei parametri di diversità genetica e della struttura della popolazione nella BMI, in quanto tali risultati aiuteranno a formulare un'efficace politica di allevamento e gestione, dando forma a futuri piani di conservazione per mantenere la diversità della razza.

MATERIALE E METODI

Dati utilizzati

Il dataset utilizzato per questo studio consiste nei dati del Libro Genealogico della Bufala Mediterranea Italiana (BMI), gestito dall'Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina (ANASB). I dati sono stati verificati e validati in base alla correttezza della data di nascita, sesso, genitori, escludendo così informazioni discordanti. Dopo il processo di editing, il database includeva 752.663 animali (580.521 femmine e 172.142 maschi), corrispondente al periodo luglio - dicembre 2023. Il database includeva le seguenti informazioni: matricola del soggetto, del padre e della madre, sesso, data di nascita, stato (vivo / morto), provincia ed allevamento.

La preparazione, l'editing dei dati e tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando l'ambiente di programmazione R v.3.6.1 (R Core Team, 2019). I diversi parametri demografici sono stati calcolati utilizzando il package optiSel v.2.0.3. (Wellmann, 2019).

Parametri di diversità genetica

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big.anasb.it

Al fine di monitorare la variabilità genetica, sono stati calcolati e presi in considerazione i seguenti parametri di diversità genetica:

- ✓ **Numero effettivo di fondatori (f_e):** è definita come la probabilità che due alleli estratti casualmente nella popolazione studiata provengano dallo stesso fondatore. (James, 1972). È calcolato dal contributo genetico dei fondatori nel pool genetico della popolazione. (Lacy, 1989).
- ✓ **Numero effettivo di antenati (f_a):** definito come il numero minimo di antenati, non necessariamente fondatori, che spiega la completa diversità genetica di una popolazione (Boichard et al., 1997).
- ✓ **Numero effettivo di fondatori nel genoma (f_g):** rappresenta gli effetti di contributi ineguali da parte di fondatori, strozzature e deriva genetica e pertanto corrisponde al numero di fondatori che dovrebbero produrre la stessa diversità genetica nel studiare la popolazione se i fondatori fossero equamente rappresentati e senza perdita di alleli (Lacy, 1989).
- ✓ **I rapporti f_e/f_a :** sono stati inoltre calcolati, dove un valore più elevato indica che la popolazione ha subito un forte collo di bottiglia e quindi perdita di variabilità genetica.
- ✓ **Native Genome Equivalent:** è il numero minimo di fondatori che sarebbero necessari per creare una popolazione composta da individui non imparentati che ha la stessa diversità di alleli nativi della popolazione oggetto di studio (Wellmann et al., 2012).
- ✓ **Native effective size:** definita come la dimensione di una popolazione di accoppiamento casuale idealizzata per la quale la diversità genetica diminuisce tanto velocemente quanto diminuisce la diversità degli alleli nativi nella popolazione oggetto di studio (Wellmann et al., 2012). Pertanto, la dimensione effettiva nativa quantifica la velocità con cui diminuisce la diversità degli alleli nativi. Al contrario, la dimensione effettiva quantifica quanto velocemente diminuisce la diversità genetica.
- ✓ **Contributo della regione** nella composizione della razza.

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'efficacia della metodologia utilizzata in questo lavoro è stata confrontata con i risultati raccolti in altre popolazioni di animali da reddito, sottoposte a programmi di miglioramento genetico o di conservazione (Valera et al., 2005, Cruz and Costa, 2009, Gómez et al., 2011, Vicente et al., 2012).

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big-anasb.it

Tuttavia, sono limitati gli studi fatti nella specie bufalina per valutare la diversità genetica utilizzando l'informazione del pedigree.

Qualsiasi tentativo di confrontare i parametri che caratterizzano l'origine genetica delle razze analizzate con i risultati disponibili in letteratura non è facile perché questi ultimi sono calcolati in popolazioni con libri genealogici profondi e chiusi. Inoltre, questo tipo di confronto deve essere interpretato con cautela, poiché questi parametri dipendono dal tempo trascorso dalla creazione del libro genealogico e dalla qualità della registrazione dei dati di allevamento (Cervantes et al., 2009). I risultati della valutazione retrospettiva dei contributi genetici accumulati dai fondatori e dagli gli antenati sono riassunti nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Analisi delle probabilità dell'origine dei geni.

ITEM	PERIODO (LUGLIO - DICEMBRE 2023)
Numero del contributo dei fondatori (f)	28669
Numero della contribuzione degli antenati	14108
Numero effettivo di fondatori (f_e)	478
Numero effettivo di antenati (f_a)	159
Rapporto f_e/f_a	3,01
Numero di antenati che contribuiscono al 50% della variabilità genetica	208

Secondo Boichard et al. (1997) tali parametri sono meno sensibili alla misurazione della consanguineità rispetto ai coefficienti di consanguineità e al N_e stimato dall'aumento individuale della consanguineità. Allo stesso modo, Vicente et al. (2012) hanno riportato che l'uso di un numero effettivo (f_e , f_a) è spesso preferito al numero di fondatori, poiché corrisponde al numero equivalente di fondatori che genererebbe la stessa diversità genetica osservata nella popolazione studiata, se tutti avessero lo stesso contributo.

Analizzando i risultati, sono stati rilevati 28.669 fondatori nel periodo Luglio - Dicembre 2023. Allo stesso modo, il numero effettivo di fondatori e antenati era rispettivamente di 478 e 159. Nella Bufala Mediterranea Italiana si osserva una grande differenza tra il numero totale ed effettivo di antenati

(fa) e fondatori (fe), indicando l'uso eccessivo di alcuni individui come genitori con il rischio di perdere la diversità genetica. Per quanto riguarda il numero di antenati che contribuiscono al 50% del pool genetico, questo è risultato in 208 individui nel periodo studiato.

La possibile perdita di alleli fondatori si rivela attraverso le differenze riscontrate tra i parametri di *fe* e *fa*. Boichard et al. (1997) ha suggerito che se una popolazione non ha subito colli di bottiglie significativi il rapporto tra i due parametri (*fe/fa*) deve essere vicino a 1. Per quanto riguarda questa affermazione, la percentuale riscontrata nella BMI (3,01) è più alta, indicando che la razza potrebbe aver subito un collo di bottiglia in un certo punto del suo processo di formazione o come conseguenza dell'utilizzo di pochi maschi nella inseminazione strumentale.

La dimensione effettiva nativa di una popolazione è definita come la dimensione di una popolazione di accoppiamento casuale idealizzata per la quale la diversità genetica diminuisce non appena la diversità negli alleli nativi diminuisce nella popolazione oggetto di studio (Wellmann et al., 2012). Pertanto, la *dimensione effettiva nativa* quantifica la velocità con cui diminuisce la diversità negli alleli nativi. Pertanto, la *dimensione effettiva* quantifica la velocità con cui diminuisce la diversità genetica. L'evoluzione della dimensione effettiva nativa è mostrata nelle **Figure 1 e 2**.

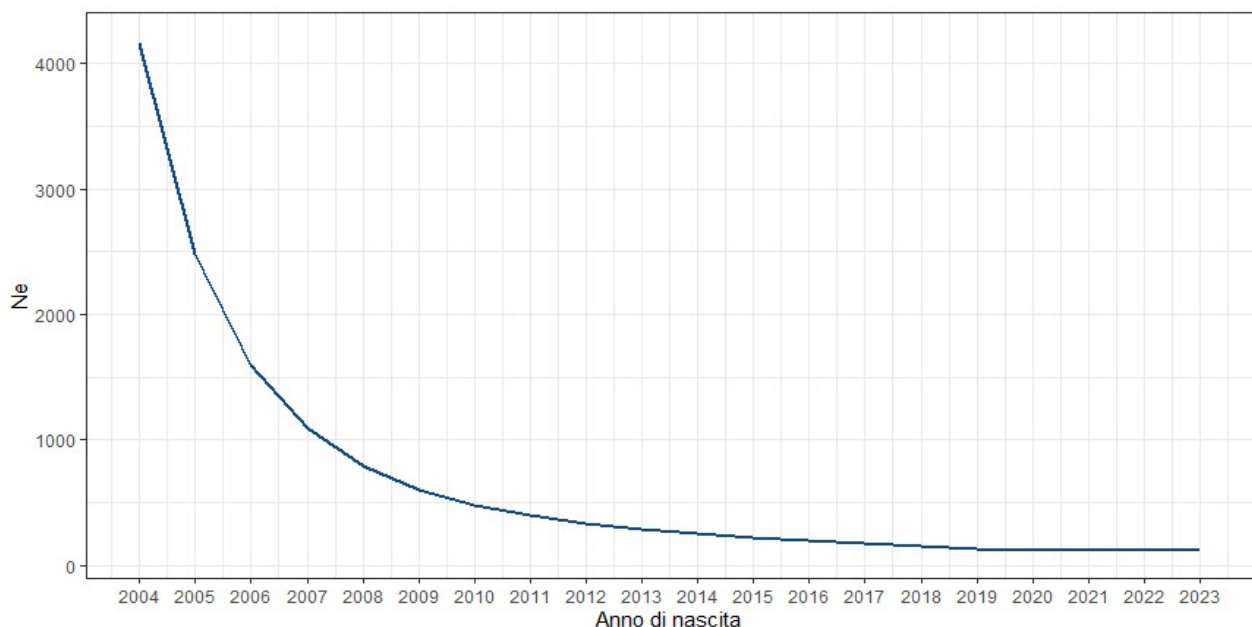


Figura 1. Andamento dei nativi effective size; periodo Luglio - Dicembre 2023.

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big.anasb.it



FEASR
Fondo europeo agricolo
per lo Sviluppo Rurale:
"L'Europa investe nelle zone rurali"

Progetto finanziato nell'ambito
della Sottomisura 10.2 - PSRN 2014/2020
Autorità di gestione:
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale
Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare e delle foreste

Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare
e delle foreste

Come si è detto in precedenza, la dimensione effettiva nativa quantifica quanto velocemente diminuisce la diversità negli alleli nativi, rispetto a questo concetto i due grafici indicano una drastica diminuzione fino al 2016, e da questo periodo in poi, la curva tende a salire e stabilizzarsi a partire dal 2020, già nel 2023 il numero effettivo nativi corrisponde a ~115 (**Figura 2**).

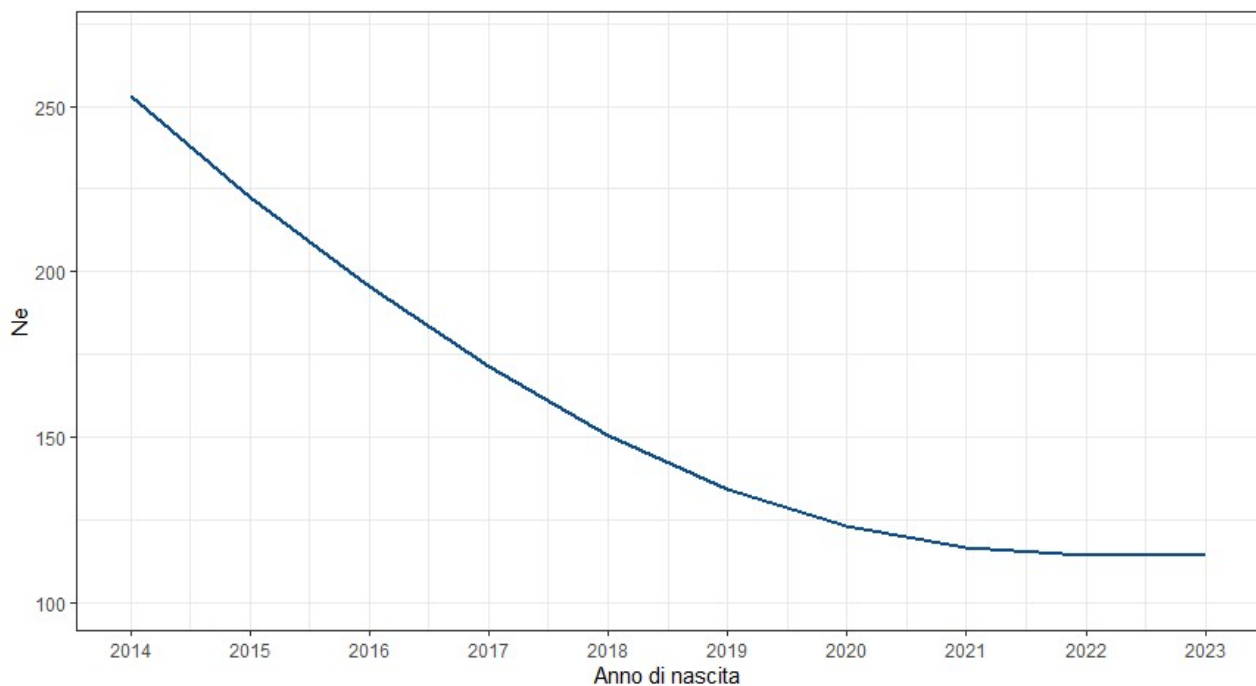


Figura 2. Native effective size degli ultimi 10 anni; periodo Luglio - Dicembre 2023.

L'andamento del genoma nativo equivalente (NGE) nella Bufala Mediterranea Italiana può essere osservato nella **Figura 3**. Il NGE di una popolazione è il numero minimo di fondatori che sarebbero necessari per creare una popolazione composta da individui non imparentati che ha la stessa diversità di alleli nativi della popolazione oggetto di studio. I risultati osservati nel BMI mostrano come la curva tenda a diminuire lungo l'anno di nascita, indicando che attualmente basterebbero meno di 100 individui per creare una popolazione composta da individui non imparentati.

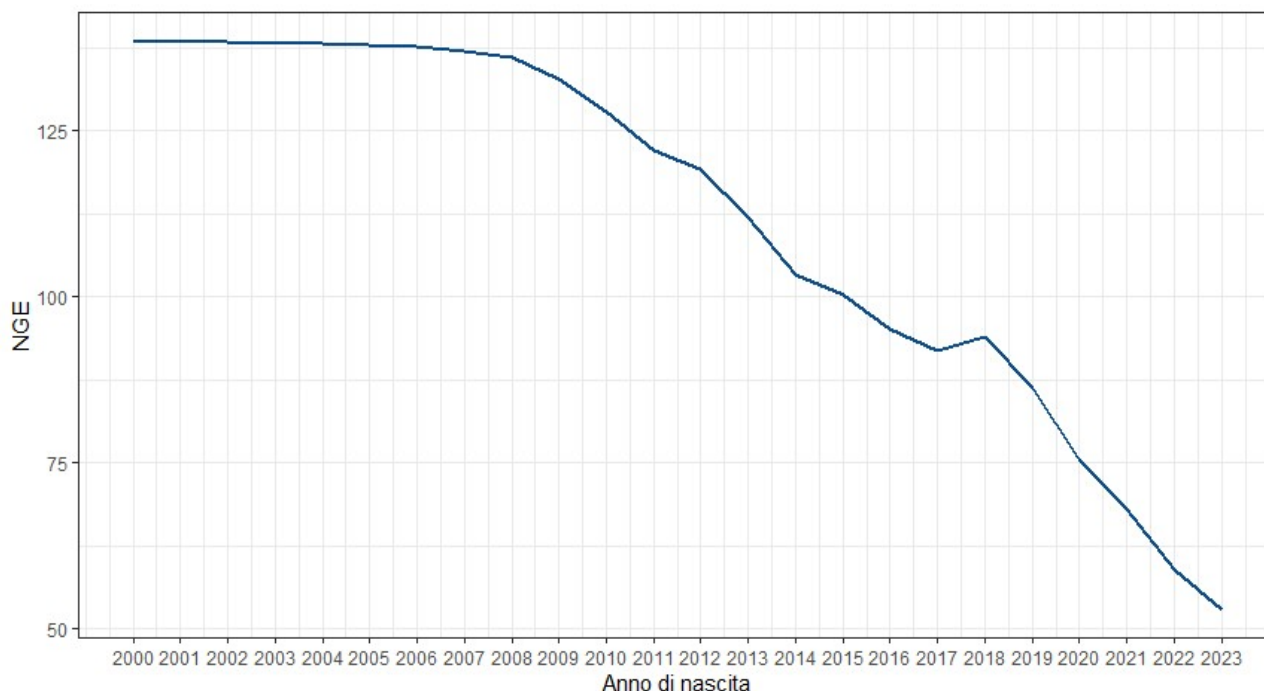


Figura 3. Andamento dei Native Genome Equivalent; periodo Luglio - Dicembre 2023.

La **Figura 4** mostra l'andamento annuale del contributo di ciascuna regione alla popolazione totale. Si osserva come Campania e Lazio abbiano subito le fluttuazioni più significative con un aumento del contributo relativo crescente dalla metà degli anni '80, mostrando come la singola Campania abbia rappresentato più della metà del valore totale. Questi due contributi (CAM-LAZ) hanno subito una diminuzione dal 2010 per stabilizzarsi fino ad ora. Mentre, la regione Nord (NOR) aumenta il suo contributo dall'anno 2000, ma come CAM e LAZ tende a diminuire dall'anno 2010. La regione SUD che comprende animali di Puglia, Calabria e Isole è rimasta costante nel corso del periodo analizzato.

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big-anasb.it



FEASR
Fondo europeo agricolo
per lo Sviluppo Rurale:
"L'Europa investe nelle zone rurali"

Progetto finanziato nell'ambito
della Sottomisura 10.2 - PSRN 2014/2020
Autorità di gestione:
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale
Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare e delle foreste

Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare
e delle foreste

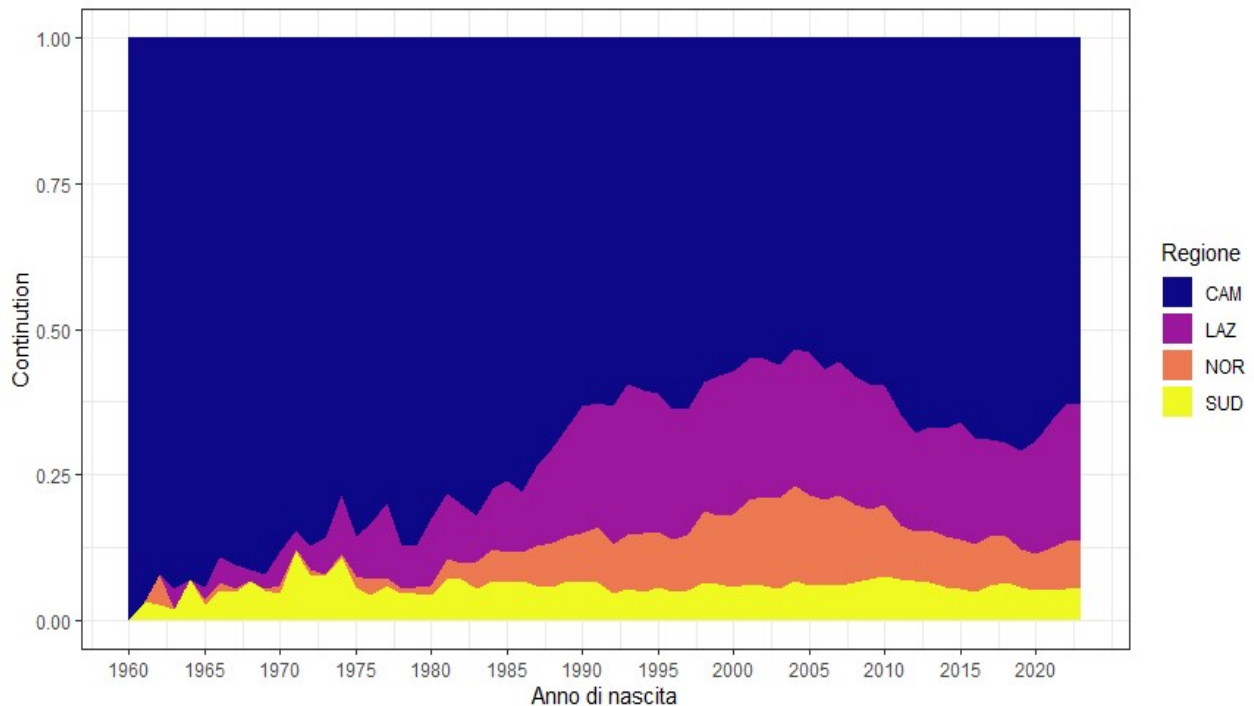


Figura 4. Contributo della regione nella composizione della razza.

CONCLUSIONE

I risultati sulla variabilità genetica nella Bufala Mediterranea Italiana ci consentono di evidenziare alcuni parametri importanti per la sua conservazione e miglioramento genetico. La dimensione effettiva, l'origine dei geni, i contributi genetici dei fondatori e antenati mostrano un mantenimento della diversità genetica. Strategie di selezione e accoppiamenti dirigit, dovrebbero essere considerate per garantire che i contributi genetici dei diversi fondatori e antenati siano bilanciati al fine di aumentare il numero di contributori alla variabilità genetica nelle generazioni successive.

BIBLIOGRAFIA

- Ángel-Marín, P. A., H. Cardona, M. Moreno-Ochoa, and M. F. Cerón-Muñoz. 2010. Analysis of genetic diversity in Colombian buffalo herds. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 23(4):411-421.
- Boichard, D., L. Maignel, and E. Verrier. 1997. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetic Selection Evolution* 29:5-23.

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big-anasb.it



FEASR
Fondo europeo agricolo
per lo Sviluppo Rurale:
"l'Europa investe nelle zone rurali"

Progetto finanziato nell'ambito
della Sottomisura 10.2 - PSRN 2014/2020
Autorità di gestione:
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale
Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare e delle foreste

Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare
e delle foreste

- Carolino, N. and L. T. Gama. 2008. Indicators of genetic erosion in an endangered population: the Alentejana cattle breed in Portugal. *J. Anim. Sci.* 86(1):47-56. doi:10.2527/jas.2007-0148.
- Cervantes, I., J. P. Gutiérrez, A. Molina, F. Goyache, and M. Valera. 2009. Genealogical analyses in open populations: the case of three Arab-derived Spanish horse breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 126(5):335-347. doi:10.1111/j.1439-0388.2008.00797.x.
- Cervantes, I., A. Molina, F. Goyache, J. P. Gutiérrez, and M. Valera. 2008. Population history and genetic variability in the Spanish Arab Horse assessed via pedigree analysis. *Livest Sci* 113(1):24-33. doi:10.1016/j.livsci.2007.02.011.
- Cruz, C. and J. S. Costa. 2009. Aspectos demográficos e avaliação do estatuto de risco da raça cão de Fila de São Miguel. *Arch. Zootec.* 58(1):505-508.
- FAO. 1998. Secondary guidelines for the national farm animal genetic resources management plans: management of small populations at risk. FAO, ed, Rome, Italy.
- Gama, L. T. 2002. Melhoramento Genético Animal. Escolar Editora, Lisboa, Portugal.
- Gargani, M., L. Pariset, M. I. Soysal, E. Özkan, and A. Valentini. 2010. Genetic variation and relationships among Turkish water buffalo populations. *Anim. Genet.* 41(1):93-96.
- Gómez, M., J. M. León, and J. V. Delgado. 2011. Análisis demográfico de la raza equina Hispano-Árabe. *Arch. Zootec.* 60:341-344.
- Groeneveld, L. F., J. A. Lenstra, H. Eding, M. A. Toro, B. Scherf, D. Pilling, R. Negrini, E. K. Finlay, H. Jianlin, and E. Groeneveld. 2010. Genetic diversity in farm animals—a review. *Anim. Genet.* 41:6-31.
- James, J. W. 1972. Computation of genetic contributions from pedigrees. *Theoretical and Applied Genetics* 42: 272–273.
- Kataria, R. S., S. Sunder, G. Malik, M. Mukesh, P. Kathiravan, and B. P. Mishra. 2009. Genetic diversity and bottleneck analysis of Nagpuri buffalo breed of India based on microsatellite data. *Russ. J. Genet.* 45(7):826-832.
- Khade, K. A., M. Panigrahi, S. F. Ahmad, P. Kumar, and B. Bhushan. 2020. Genetic characterization and assessment of diversity in Pandharpuri buffalo breed of India using heterologous microsatellite markers. *Anim. Biotechnol.* 31(5):426-431.
- Lacy, R. C. 1989. Analysis of founder representations in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.* 8:111-123.

- Medeiros, B. R., C. D. Bertoli, P. Garbade, and C. M. McManus. 2014. Brazilian Sport Horse: pedigree analysis of the Brasileiro de Hipismo breed. *Ital. J. Anim. Sci.* 13(3):657-664. doi:10.4081/ijas.2014.3146.
- Mekkiawy, W., Y. Hafez, M. Attia, S. Abdel-Salam, and S. Abo Bakr. 2012. Association analysis between microsatellite DNA markers and milk yield and its components in Egyptian buffaloes using a random regression model. *Egyptian Journal of Animal Production* 49(1):9-18.
- Notter, D. R. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *J. Anim. Sci.* 77(1):61-69.
- Özkan Ünal, E., M. İ. Soysal, E. Yüncü, N. D. Dağtaş, and İ. Togan. 2014. Microsatellite based genetic diversity among the three water buffalo (*Bubalus bubalis*) populations in Turkey. *Archives Animal Breeding* 57(1):1-12.
- R Core Team. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Rochus, C. M., E. Jonas, and A. M. Johansson. 2020. Population structure of five native sheep breeds of Sweden estimated with high density SNP genotypes. *BMC Genet.* 21(1):27-27. doi:10.1186/s12863-020-0827-8.
- UNEP. 1992. Rio declaration. World Conference on Environment and Development. United Nations Environment Program. Brazil. United Nations Environment Program. United Nations publication. Sales No. E.73.II.
- Valera, M., A. Molina, J. P. Gutiérrez, J. Gómez, and F. Goyache. 2005. Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Livest. Prod. Sci.* 95(1–2):57-66. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.12.004>.
- Vicente, A. A., N. Carolino, and L. T. Gama. 2012. Genetic diversity in the Lusitano horse breed assessed by pedigree analysis. *Livest Sci* 148(1–2):16-25. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.05.002>.
- Vohra, V., N. P. Singh, S. Chhotaray, V. S. Raina, A. Chopra, and R. S. Kataria. 2021. Morphometric and microsatellite-based comparative genetic diversity analysis in *Bubalus bubalis* from North India. *PeerJ* 9:e11846.
- Vohra, V., M. Sodhi, S. K. Niranjana, A. K. Mishra, A. Chopra, M. Kumar, and B. K. Joshi. 2017. Characterization of rare migratory cattle and evaluation of its phylogeny using short-tandem-repeat-based markers. *J. Appl. Anim. Res.* 45(1):355-363.

- Wellmann, R. 2019. Optimum contribution selection for animal breeding and conservation: the R package optiSel. BMC Bioinformatics 20(1):25. doi:10.1186/s12859-018-2450-5.
- Wellmann, R., S. Hartwig, and J. Bennewitz. 2012. Optimum contribution selection for conserved populations with historic migration. Genetics, selection, evolution : GSE 44(1):34-34. doi:10.1186/1297-9686-44-34.
- Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. Amer Nat 56:330-338.
- Zhang, Y., D. Sun, Y. Yu, and Y. Zhang. 2007. Genetic diversity and differentiation of Chinese domestic buffalo based on 30 microsatellite markers. Anim. Genet. 38(6):569-575.

A.N.A.S.B. • Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina

Via F. Petrarca 42/44 - Loc. Centurano 81100 - Caserta (CE) • Tel. 0823/356743 • Fax 0823/320964 • Email: info@big-anasb.it • www.big-anasb.it



FEASR
Fondo europeo agricolo
per lo Sviluppo Rurale:
"l'Europa investe nelle zone rurali"

Progetto finanziato nell'ambito
della Sottomisura 10.2 - PSRN 2014/2020

Autorità di gestione:
Direzione Generale dello Sviluppo Rurale
Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare e delle foreste

Ministero dell'agricoltura,
della sovranità alimentare
e delle foreste