



ORBITA

VARIANTI GENETICHE DEL FENOTIPO POLLED NEI BOVINI

Prof. Alfredo Pauciullo,
Dipartimento di Scienze Agrarie Forestali e Alimentari



Finanziato
dall'Unione
europea



Iniziativa finanziata dal Complemento di sviluppo rurale 2023-2027 della Regione Piemonte

Intervento SRG01 - Sostegno ai Gruppi Operativi PEI - AGRI

Progetto ORBITA

SOMMARIO

1. Il problema affrontato da ORBITA
2. Quale allele POLLED stiamo trasmettendo?
 - Un locus, diversi alleli dominanti
 - Distribuzione tra le razza
 - Architettura molecolare delle varianti
3. La variante Celtica a livello nucleotidico
4. Ulteriori fenotipi associati
5. Considerazioni Finali



Il problema affrontato da ORBITA

Conflitto tra vantaggi gestionali della decornazione e le relative implicazioni per il benessere animale vs. alternativa genetica con divario in termini di merito genetico



Benessere Animale

Evitare il dolore, lo stress e il rischio di infezioni locali associati alla decornazione



Gestione aziendale

Migliorare la sicurezza e ridurre la necessità di ricorrere ad anestetici, analgesici ed eventuali antibiotici.



Genetic challenge

Mantenere il valore produttivo e morfologico della razza Piemontese durante il processo di introgressione.

ORBITA combina il miglioramento del benessere animale con un obiettivo di selezione specifico

Ottenere tori Piemontesi omozigoti Polled il cui merito genetico si avvicini a quello dei tori appartenenti al programma di selezione



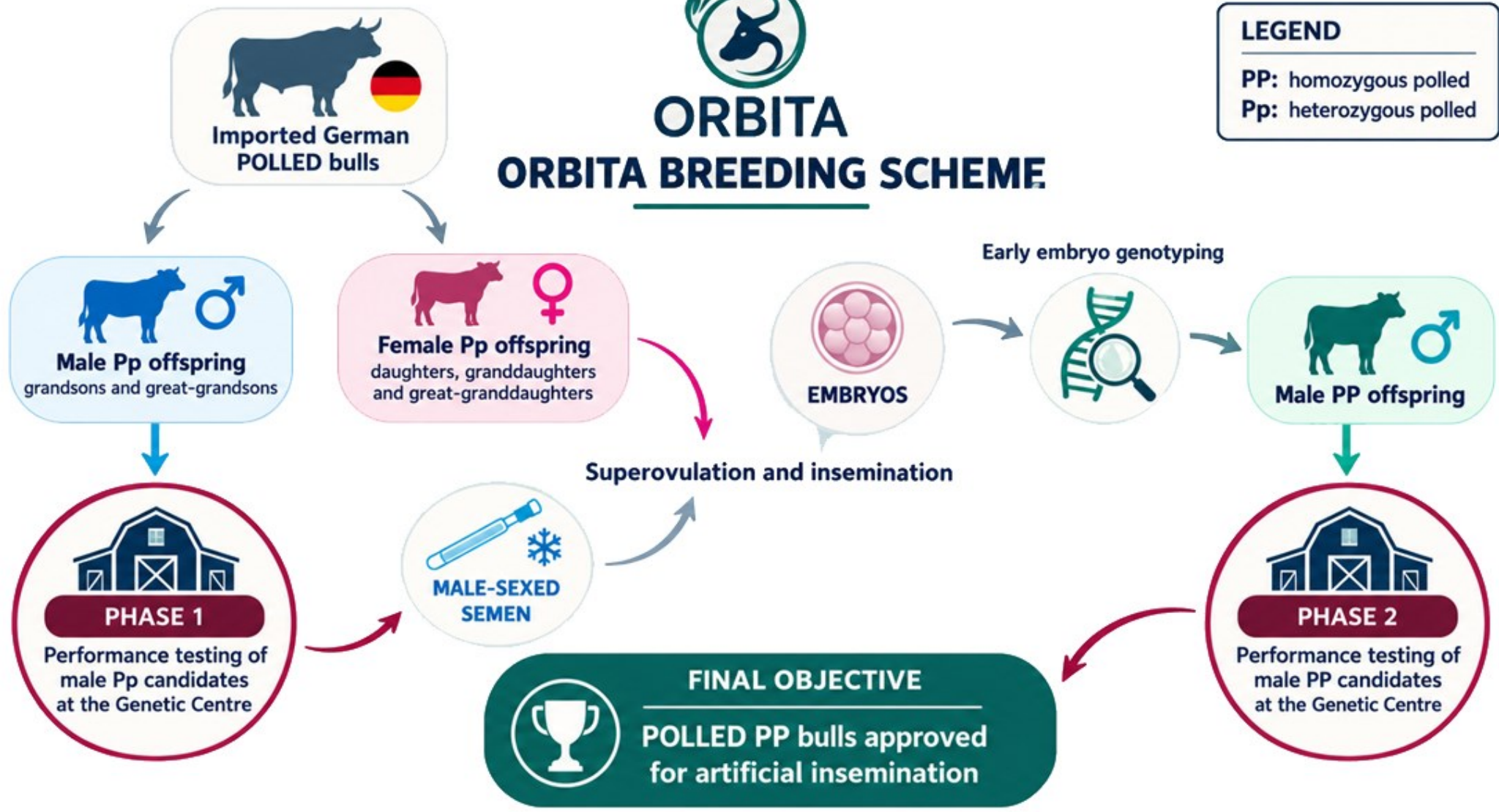
ORBITA

ORBITA BREEDING SCHEME

LEGEND

PP: homozygous polled

Pp: heterozygous polled



Quale allele POLLED stiamo trasmettendo?



Un locus, diversi alleli dominanti

Regione centromerica di BTA1

PC Celtica
dominante

PF Frisona
dominante

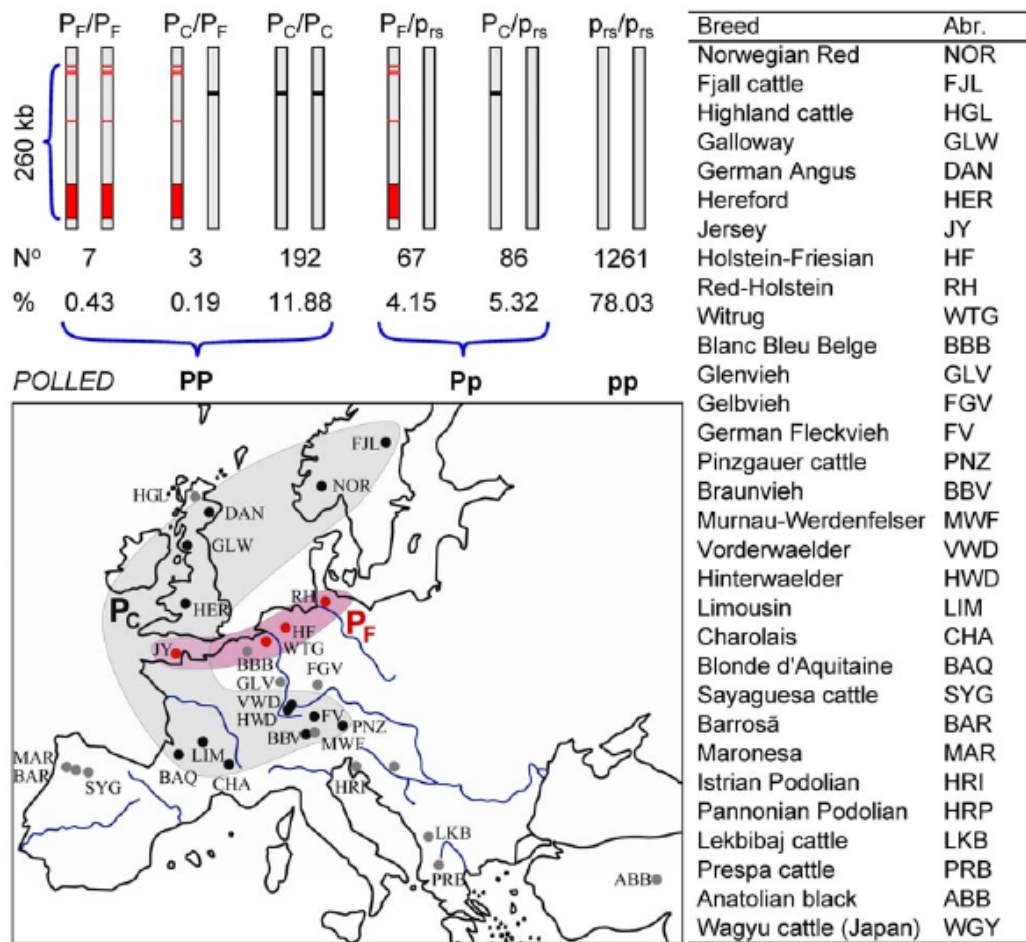
PM Mongola
dominante

PG Guarani
dominante

Una singola copia dell'allele determina generalmente un fenotipo senza corna (Polled) o con abbozzi cornei (Scurred), a seconda del background genetico a livello dei *loci* SCURS.



La distribuzione tra le razze riflette origini evolutive distinte



Medugorac et al. 2012

Allele Celtico

Ampia distribuzione dalla Scandinavia e dalla Gran Bretagna, attraverso la Francia, fino alla Germania meridionale. Tra le razze interessate figurano Galloway, Highland, German Angus, Hereford, Fleckvieh e Braunvieh.

Allele Frisone

Concentrata nel pool genetico bovino dell'Europa nord-occidentale. Le razze interessate comprendono prevalentemente Holstein-Friesian, Red Holstein, Jersey e Witrug.

Le denominazioni delle razze indicano le origini prevalenti, non un'associazione esclusiva con una determinata razza.

Come è stata scoperta l'eterogeneità allelica: un disegno sperimentale caso-controllo multi-razza

01

Map

162 casi omozigoti *polled* e 162 controlli con corna hanno permesso di mappare il *locus* in un intervallo di 381 kb

02

Resequencing

Una regione target di 547 kb è stata sequenziata in 16 tori con genotipo POLLED noto

03

Split by ancestry

Non è emersa alcuna variante di sequenza universale finché i gruppi Holstein e non-Holstein non sono stati analizzati separatamente

04

Validate

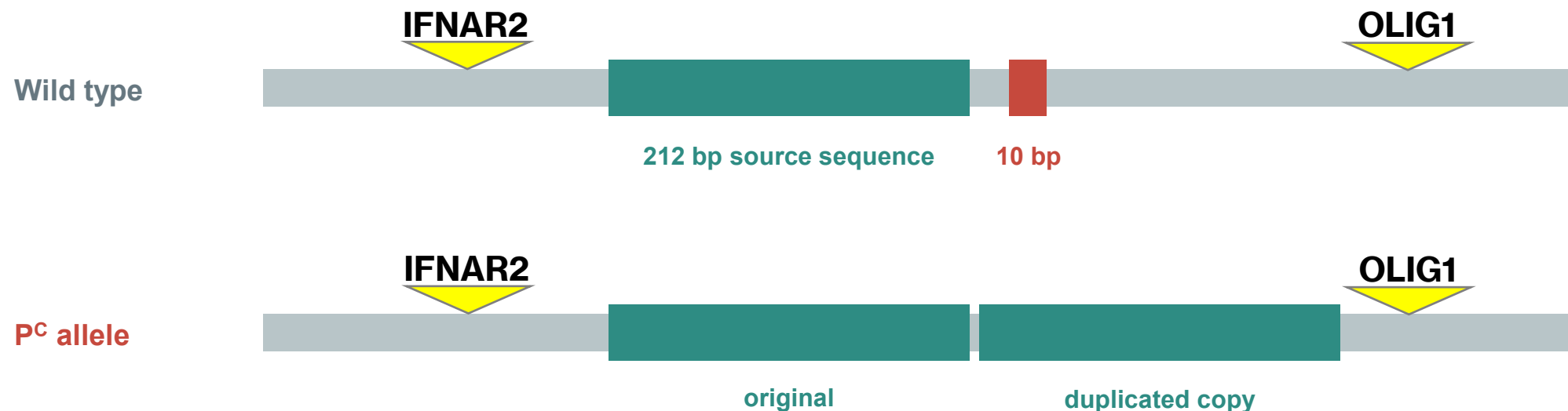
I genotipi candidati sono stati analizzati in casi, portatori e in un pannello multirazza selezionato in modo semi-casuale.

L'assenza di un'unica mutazione comune è stata la chiave interpretativa, non un risultato negativo

Architettura molecolare delle quattro varianti

Allele	Cambio Strutturale	Popolazione di origine	Definizione
P^C	Una duplicazione di 212 bp sostituisce 10 bp, determinando un <i>Indel</i> netto di 202 bp	Razze taurine europee associate alle regioni celtiche	Definita in modo preciso
P^F	Duplicazione in tandem di 80.128 bp all'interno di un aplotipo di 260 kb	Holstein-Friesian; Red Holstein, Jersey, Witrug	Duplicazione fortemente indicata come variante candidata
P^M	Duplicazione-inserzione di 219 bp, associata a una delezione di 6 bp e a un'inserzione di 7 bp nelle vicinanze	Mongolian Turano cattle and yak	Due varianti associate
P^G	Duplicazione di circa 110 kb	Polled Nellore in Brasile	Sito di inserzione non ancora definito

La variante Celtica a livello nucleotidico



P202ID

212 bp duplicate; 10 bp sostituite

UMD3.1: duplicated segment 1,705,834-1,706,045; replacement at 1,706,051-1,706,060

La variante Celtica a livello nucleotidico



PC STRUCTURE

pp
Genotype

Wild type

212 bp source sequence

10 bp

10 20 30 40 50 60
TCAAGAAGGC GGC ACTATCT TGATGGA ACT CAGTCTCATC ACCTGTGAAA TGAAGAGTAC

70 80 90 100 110 120
GTGGTACCAA CTACTTTCTG AGCTCACGCA CAGCTGGACG TCTGCGCCTT TCTTGTTATA

130 140 150 160 170 180
CTGCAGATGA AAACATTTTA TCAGATGTTT GCCTAAGTAT GGATTACATT TAAGATACAT

190 200 210 220 230 240
ATTTTTCTTT CTTGTCTGAA AGTCTTTGTA GTGAGAGCAG GCTGGAATTA TGTCTGGGGT

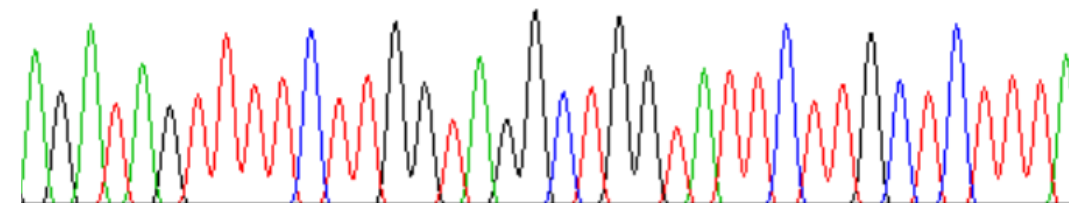
250 260 270 280 290 300
GAGATAGTTT TCTTGGTAGG CTGGTATTCT TGCTCTTTAG ATCAAACTC TCTTTTCATT

310 320 330 340 350 360
TTTAAGTCTA TCCCAAAGT GTGGGAGGTG TCCTTGATGT TGAATATATAG GCAGAGGGTC

370
AGTTTATCA.

40595_B1_B03_0 Run ended: Nov 19, 2025

220 230 240
AGATAGTTTCTTGGTAGGCTGGTATTCTTGTCTCTTTA



La variante Celtica a livello nucleotidico



PC STRUCTURE

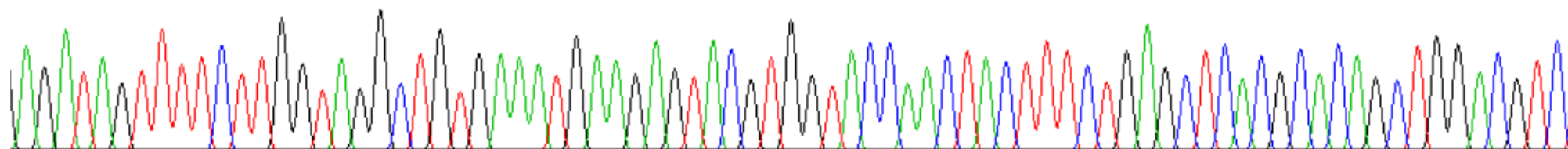
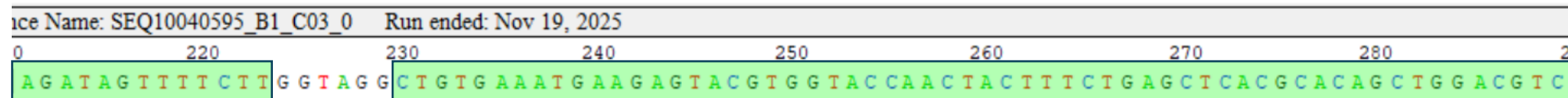
PP
Genotype

P^C allele



original

duplicated copy



P202ID

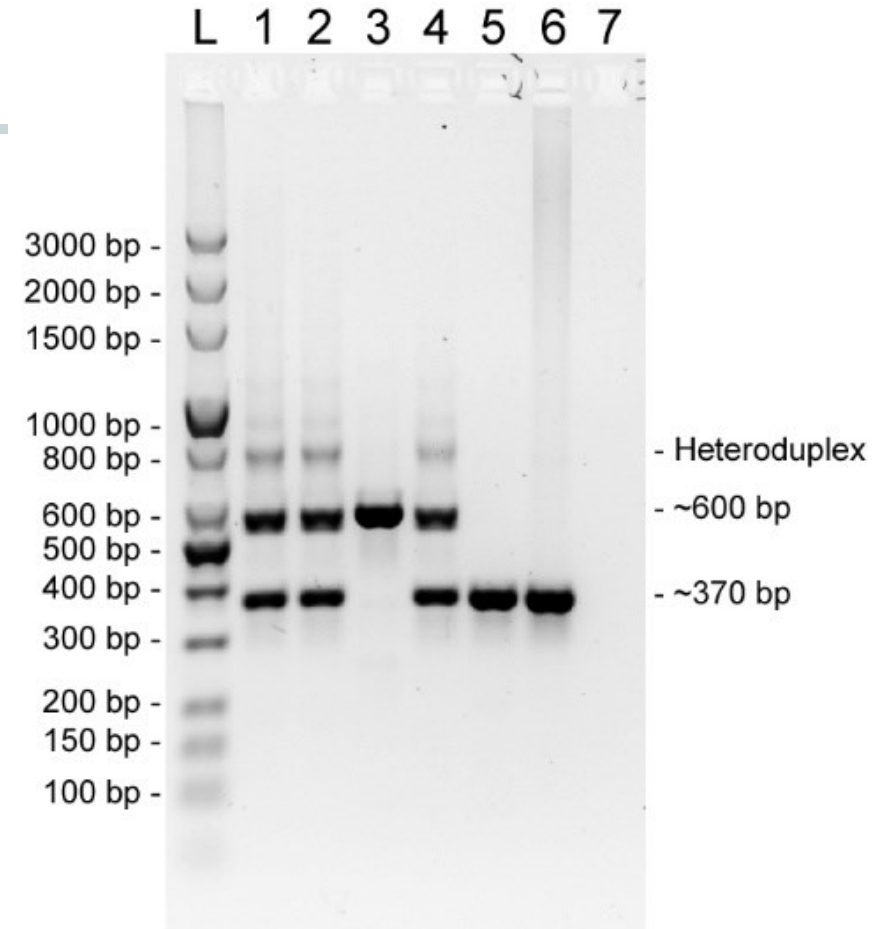
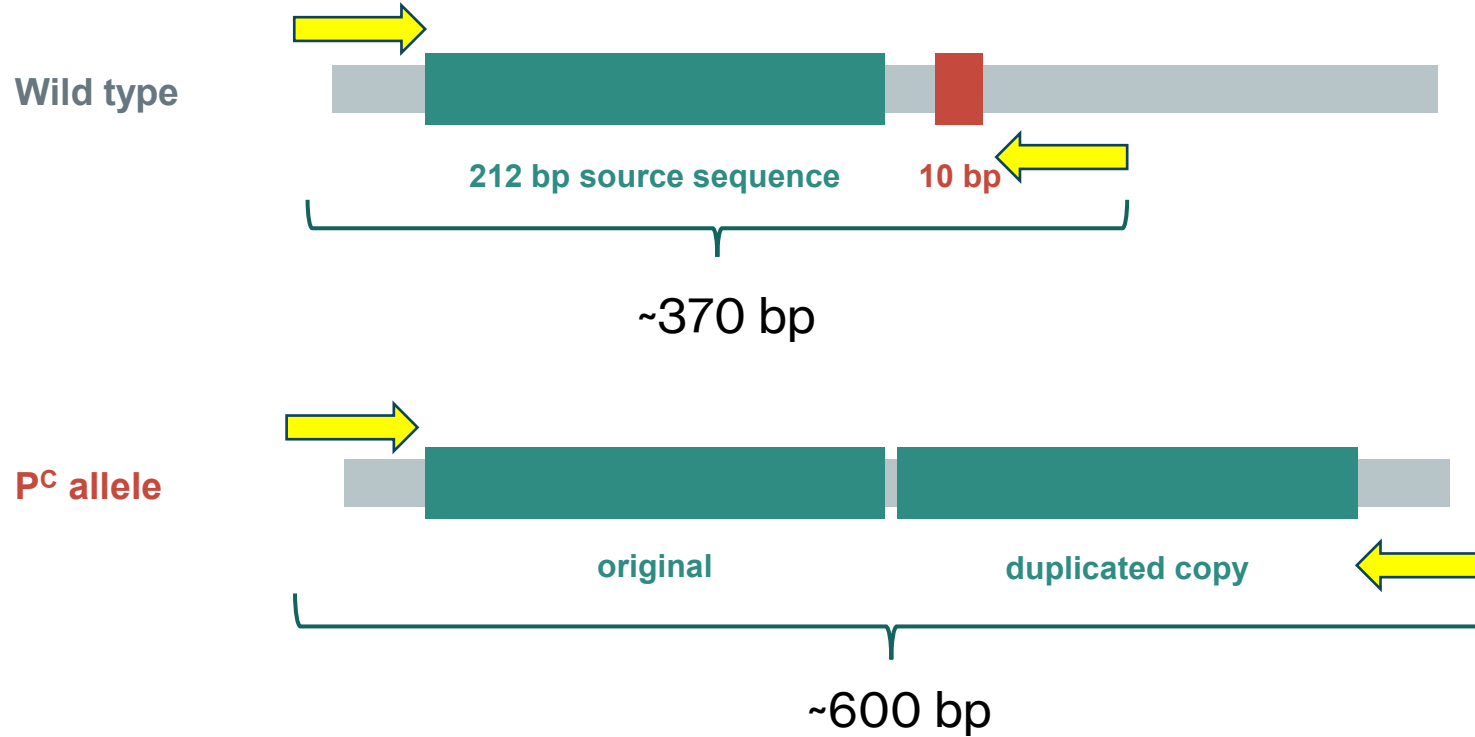
212 bp duplicate; 10 bp sostituite

UMD3.1: duplicated segment 1,705,834-1,706,045; replacement at 1,706,051-1,706,060



ORBITA

La variante Celtica a livello nucleotidico



P2021D

212 bp duplicate; 10 bp sostituite





La componente di delezione non è sufficiente

Disegno sperimentale

1

Embrioni con corna (pp)

Il locus POLLED contiene la sequenza wild-type.

2

Editing CRISPR-Cas9

Delezione di 133 bp comprendente i 10 bp assenti nell'allele PC.

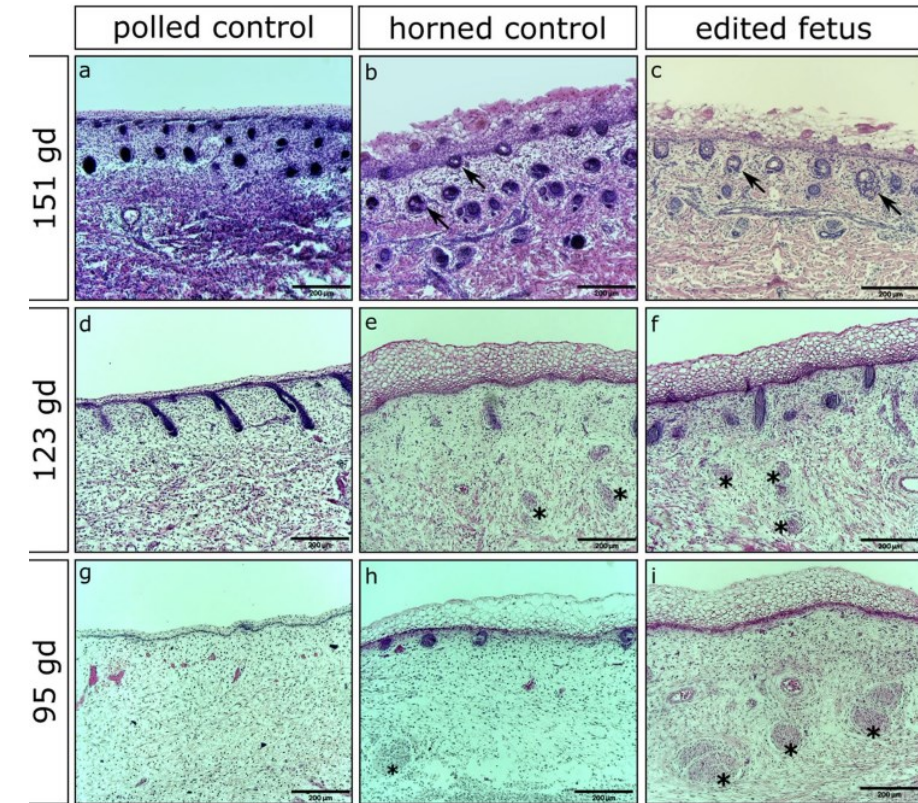
3

Valutazione fetale

Sette feti mutati, inclusi due con delezione omozigote

Risultato

Tutti i feti hanno sviluppato l'abbozzo cornuale e la loro istologia era simile ai controlli con corna



Il feto editato conserva le caratteristiche istologiche dell'abbozzo cornuale.



Perchè P^c è diventato il principale allele causativo

Perfetta segregazione

Nello studio multi-razza di Medugorac e coll. (2012), gli animali portatori di P^c presentavano sempre il fenotipo *polled*, mentre gli animali con corna erano sempre omozigoti per l'allele wild-type.

Candidato unico

Tra i tori non-Holstein sottoposti a risequenziamento, P202ID era l'unica variante concordante con i genotipi PP e pp

Conferma indipendente

Studi di associazione successivi hanno nuovamente confermato la completa segregazione in questo sito

Genome-editing test

L'introduzione di P^c in fibroblasti di bovini Holstein con corna ha prodotto vitelli clonati *polled*; anche la loro progenie ha mostrato il fenotipo *polled*.

Nel loro insieme, questi risultati fanno evolvere P^c da una variante semplicemente **associata** al carattere a un allele per il quale esistono **evidenze sperimentali di causalità**

Una variante regolatoria con un meccanismo non ancora completamente definito

PC

Cambio
intergenico
strutturale

Possibile effetto

Il riarrangiamento è localizzato all'interno di un dominio di associazione topologica (TAD), che comprende **IFNAR2** (*Interferon α and β receptor subunit 2*), **OLIG1** (*Oligodendrocyte transcription factor 1*) e due **linc-RNA** (*Long intergenic non-coding RNA*).

La variante potrebbe alterare le interazioni tra enhancer e promotori genici che tuttavia restano da confermare.

Segnali di espressione osservati

Alcuni studi hanno riportato alterazioni dell'espressione dei **lincRNA** e una ridotta espressione di **RXFP2** (*Relaxin Family Peptide Receptor 2*) nel tessuto fetale dell'abbozzo corneale di animali *polled*.

Allele causativo: solide evidenze. Meccanismo molecolare: ancora non completamente chiarito.

P^C impedisce la formazione dell'abbozzo corneale fetale

60-90 days

Feti con corna

Si sviluppa un tessuto distinto dell'abbozzo corneale, caratterizzato da un'epidermide ispessita e dalla presenza di fasci nervosi

60-90 days

P^C carriers

L'area in cui dovrebbe svilupparsi l'abbozzo corneale rimane liscia e presenta caratteristiche simili alla normale cute frontale.

Dopo nascita

Vitelli con corna

La crescita e l'ossificazione delle corna iniziano circa un mese dopo la nascita

Dopo nascita

P^C carriers

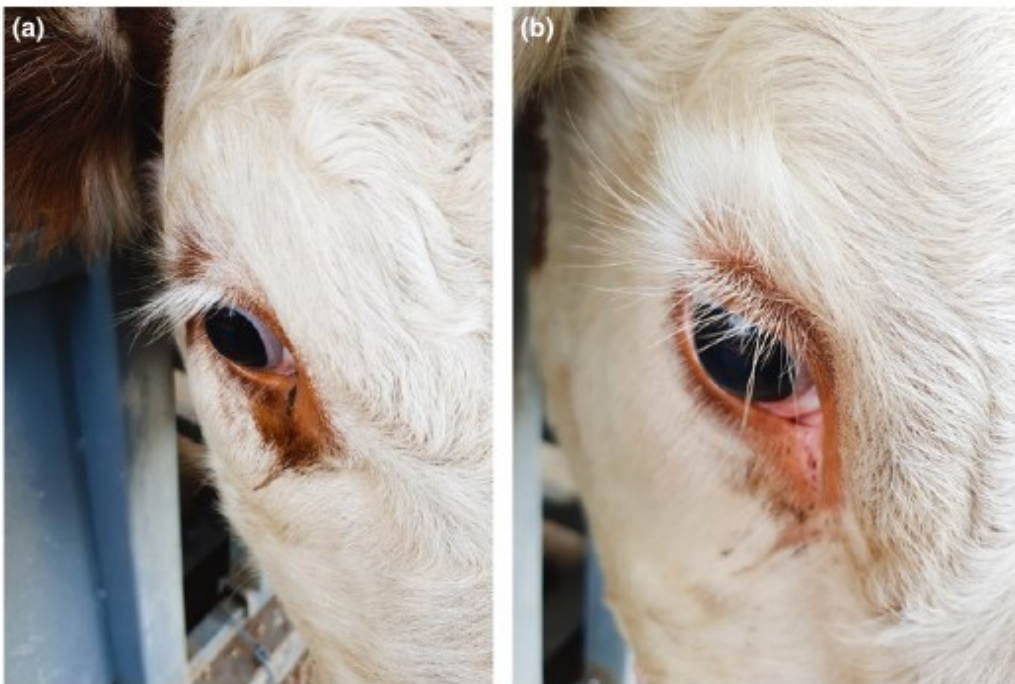
Non si sviluppano vere corna; possono tuttavia comparire abbozzi cornei (*scurs*) in funzione di altri *loci* genetici



ORBITA

BEYOND HORNS

Ulteriori fenotipi associati richiedono un'interpretazione prudente



Distichiasi

I portatori degli alleli Celtic e Friesian possono presentare una fila supplementare di ciglia. Non sono stati riportati effetti negativi associati a questa condizione.

Breed-specific findings

Prolasso prepuziale è stato segnalato in bovini Charolais *polled* portatori di P^c , ma non in altre razze portatrici di P^c o P^f . Ciò suggerisce un'interazione o un linkage con *loci* specifici della razza, piuttosto che un effetto universale di P^c

L'associazione non implica automaticamente pleiotropia



Considerazioni Conclusive

Come la variante Celtica contribuisce agli obiettivi di ORBITA

Confermare P^c

Un test molecolare specifico consente di distinguere l'allele Celtico da P^f e dalla sequenza wild-type.

Selezionare embrioni PP

Un genotyping consente di identificare gli embrioni portatori di due copie di P^c prima del trasferimento nelle vacche riceventi.

Tutelare la razza

I profili SNP consentono di monitorare l'identità genomica della razza Piemontese, il grado di parentela e le regioni di omozigosi (ROH).

Monitorare il fenotipo

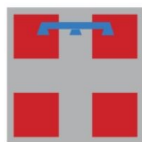
Monitorare la presenza di *scurs*, le performance produttive e gli eventuali caratteri correlati man mano che aumenta la frequenza di P^c .

ORBITA quindi integra la genotipizzazione di P^c con le tecnologie riproduttive e il monitoraggio genomico, trasformando un obiettivo di benessere animale in un programma di selezione controllato



ORBITA

Grazie per l'attenzione



**REGIONE
PIEMONTE**



Sviluppo Rurale
Piemonte 2023-2027



**UNIVERSITÀ
DI TORINO**



DISAFA

Dipartimento di
Scienze Agrarie,
Forestali e Alimentari

