

Bufala Mediterranea Italiana: L'importanza dell'analisi del cariotipo



Negli ultimi 15 anni, la corsa al miglioramento genetico ha portato molti imprenditori agricoli a rivoluzionare le proprie aziende zootecniche indirizzando i propri investimenti principalmente su due fronti: infrastrutture e genetica. Una scelta dettata, indirettamente, dalla consapevolezza che l'espressione fenotipica di un individuo è data dall'interazione del suo genoma con l'ambiente nel quale vive. **Un ambiente "ottimale", quindi, è necessario per permettere ad un individuo "ottimale" di esprimere al meglio le proprie caratteristiche**, questo è un concetto essenziale quando si inizia a pensare di investire un capitale, piccolo o grande che sia, in "genetica".

Prima di tutto questo, prima di movimentare risorse economiche essenziali per l'azienda, l'allevatore dovrebbe conoscere il suo **"potenziale di stalla"**, calcolare il proprio valore,

conoscere le sue effettive produzioni e rapportare il tutto al mercato attuale al fine di evitare investimenti sbagliati.

Un processo di **miglioramento genetico** richiede, in primo luogo, di definire gli obiettivi aziendali che si intende raggiungere e le conoscenze delle proprie risorse. Di conseguenza, è necessario valutare se i primi animali da impiegare non siano queglii stessi animali, già presenti in allevamento, che fino a quel momento hanno permesso all'allevatore di raggiungere una realtà produttiva economicamente favorevole. Uno dei punti cardine di un'azienda zootecnica, piccola o grande che sia, è la **riproduzione finalizzata alla creazione di rimonta internacape di sostituire adeguatamente gli animali da riformare**. L'analisi dei dati aziendali e delle produzioni permette ad un allevatore di selezionare i soggetti da utilizzare per il proprio progetto di miglioramento genetico e le analisi citogenetiche supportano le scelte dell'allevatore permettendo di evidenziare l'eventuale presenza di difetti cromosomici visibili attraverso l'analisi del cariotipo.

L'**analisi del cariotipo** è un esame di laboratorio che consente di escludere la presenza di anomalie numeriche e strutturali dei cromosomi di un soggetto che possono essere causa di ipofertilità e sterilità altrimenti non diagnosticabili. Tale indagine andrebbe effettuata su tutti i futuri riproduttori, ed in particolare sui maschi che verranno impiegati in Inseminazione Strumentale (IS).

Esistono **due generi di Bufalo**: il Bufalo d'acqua (*Bubalus Bubalis*) e il Bufalo Africano (*Syncerus caffer*). Alla specie d'acqua appartengono il "Bufalo di Fiume" o River Buffalo, con i suoi 50 cromosomi, e il "bufalo di palude" o *Swamp buffalo*, con 48. Il bufalo africano comprende due sottospecie: il *Syncerus Caffer Caffer*, con 52 cromosomi, e il *Syncerus Caffer Nanus*, con 54 cromosomi.

Alla domanda "quanti cromosomi ha un bufalo?", la risposta

sarà quindi sicuramente “dipende dalla sottospecie”. La **Bufala di razza Mediterranea Italiana** (allevata in Italia), che successivamente chiameremo BMI, appartiene alla sottospecie *Bubalus bubalis* e presenta 50 cromosomi ($2n=50$).

I cromosomi sono la rappresentazione visibile a microscopio dell'organizzazione strutturale del DNA e vengono distinti in autosomi ed eterosomi: gli autosomi sono tutti i cromosomi non sessuali, gli eterosomi sono solo i cromosomi sessuali X e Y. **Le anomalie possono quindi coinvolgere gli autosomi o gli eterosomi ed avere conseguenze diverse sulla sorte dell'individuo.** Le anomalie che coinvolgono gli autosomi molto spesso portano a riassorbimenti, morte embrionale o morte fetale, a differenza delle anomalie che riguardano gli eterosomi che, molto spesso, non interferiscono con la vita del soggetto affetto e non danno manifestazioni fenotipiche se non dopo la pubertà, al primo accoppiamento o alla prima visita ginecologica o andrologica, momento in cui gli investimenti e le spese di gestione sono ormai stati fatti.

Le anomalie riscontrabili attraverso un'analisi del cariotipo, come detto in precedenza, possono essere di due tipi: **numeriche e strutturali**. I cromosomi non ancora organizzati in cariotipo vengono definiti “piastra metafasica”.

Con il termine **ploidia** indichiamo il numero di cromosomi presenti in ogni cellula, nel caso della BMI la normalità sarà $2n=50$ (compresi ovviamente i cromosomi sessuali). Ogni **alterazione del numero dei cromosomi** è definita “**aneuploidia**”, ovvero, nel caso della BMI, la presenza in più piastre metafasiche di un numero superiore o inferiore ai canonici 50 cromosomi. L'alterazione numerica dell'assetto cromosomico può portare al manifestarsi, anche improvviso, di disordini riproduttivi con conseguenti perdite economiche per l'allevatore. Le anomalie numeriche che coinvolgono gli eterosomi (X e Y) vanno dalla meno presente e conosciuta sindrome di Turner ($X0$), sindrome della tripla X (XXX) e sindrome di Klinefelter (XXY), alla Sindrome di Freemartin

(XX/XY) di Bufalo e Bovino, ben nota agli allevatori da tempo immemore perché causa di sterilità della femmina nata da parto gemellare con prole di sesso opposto (Di Meo et al., 2008).

Le **anomalie cromosomiche strutturali** possono comportare un aumento, una perdita o il mantenimento della quantità totale di DNA fisiologicamente presente nel nucleo di una cellula. Ad esempio, una delezione cromosomica comporta una perdita di materiale genetico, una duplicazione comporta un aumento e una traslocazione comporta un cambiamento di posizione di un frammento di cromosoma rispetto al normale assetto cariotipico.

Tutte queste condizioni determinano uno **sbilanciamento dell'assetto genomico con conseguenti difetti sull'espressione genica e, soprattutto, sulla formazione di spermatozoi e ovociti**. Le conseguenze di queste anomalie si manifesteranno direttamente sul potenziale riproduttivo della mandria perché sono trasmissibili e responsabili di ipofertilità. Per questo motivo è molto importante testare i riproduttori al fine di evitare situazioni spiacevoli ed, in particolare, il diffondersi di un'eventuale anomalia cromosomica nella mandria.

I **Tori**, principalmente quelli aziendali, devono essere il principale oggetto di attenzione e indagine da parte di chi si occupa della gestione riproduttiva di un'azienda, in quanto, accoppiandosi con un numero ampio di femmine, **possono diffondere più facilmente anomalie genetiche nella mandria**. Al contrario, le femmine, avendo un numero limitato di figli generati nell'arco di una carriera produttiva, conviene che siano analizzate nel caso in cui destinate ad essere madri di Toro, se si iniziano a manifestare allungamenti patologici dell'interparto nel singolo soggetto o nel gruppo, o per eventuali richieste dell'allevatore.

Per quanto riguarda i bovini, tra le anomalie strutturali autosomiche più conosciute e presenti nell'ambiente zootecnico

possiamo citare la Traslocazione Robertsoniana 1-29 (Udroiu I, Sgura A. 2017); nel bufalo sappiamo da dati pubblicati dal laboratorio di Citogenetica Animale e Mappaggio Genetico dell'ISPAAM che il 22% delle bufale studiate presenta anomalie cromosomiche a carico dei cromosomi sessuali.

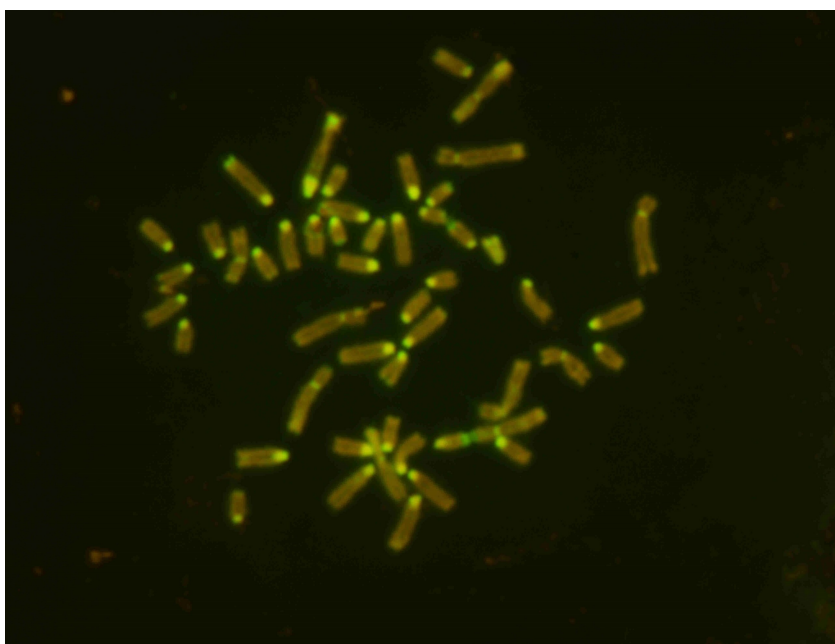
L'identificazione di anomalie cromosomiche strutturali è spesso un reperto occasionale ma è stato calcolato (Albarella et al., 2013) che un singolo riproduttore maschio può trasmetterle al 30% della sua progenie.

Ai fini delle indagini citogenetiche di routine è **sufficiente un prelievo di circa 5 ml sangue in provetta con Sodio Eparina**. Il campione deve essere processato entro le 36 ore dall'effettuazione del prelievo. Tempistiche così brevi sono determinate dalla necessità di allestire almeno due colture cellulari dalle quali verranno poi estratte le piastre metafasiche per l'analisi del cariotipo.

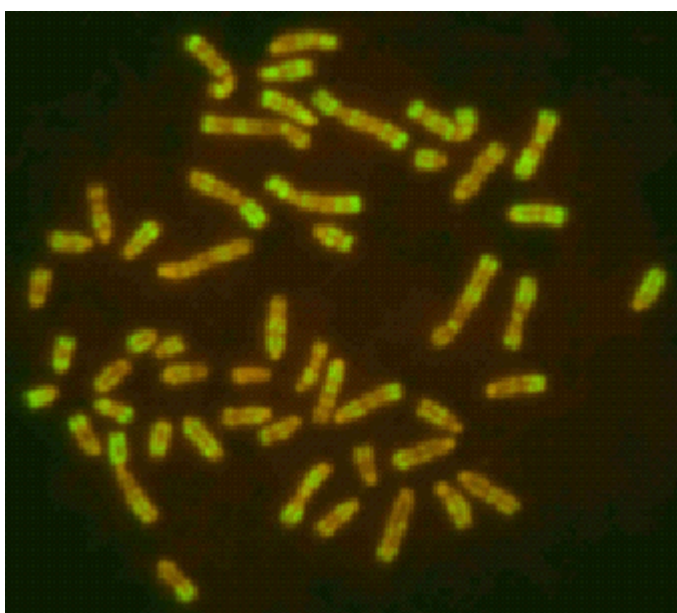
Le due colture verranno destinate a due analisi ben distinte: la prima, chiamata **analisi delle CBA**, evidenzierà condizioni di aneuploidia in particolare a carico dei cromosomi sessuali, la seconda, chiamata **analisi delle RBA**, permetterà di esaminare in dettaglio i cromosomi evidenziando eventuali alterazioni strutturali (analisi del cariotipo).

Le analisi citogenetiche hanno un costo che molto spesso sembra superfluo per gli allevatori, ma che è ampiamente ripagato dall'**evitare il rischio di diffondere anomalie strutturali** che ridurrebbero il potenziale riproduttivo e produttivo della mandria in maniera silente per poi evidenziarsi quando questa è ampiamente diffusa e le perdite economiche sono ormai ingenti. Spesso i centri genetici effettuano queste analisi routinariamente sui soggetti destinati alla produzione di seme sotto la direttiva delle associazioni di razza come l'ANASB. Le aziende che continuano a mantenere in stalla tori aziendali, a prescindere dal valore, dovrebbero testare questi animali per evitare il

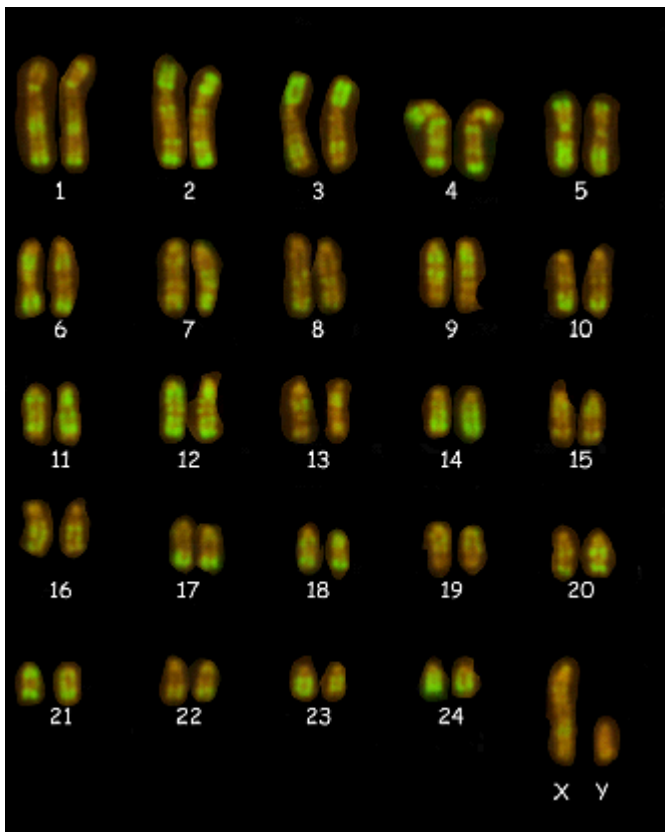
diffondersi di anomalie genetiche. Rispetto al bovino, la popolazione di BMI si attesta intorno alle 400.000 unità (FAO 2018), il controllo delle anomalie genetiche deve servire ad evitare la propagazione incontrollata delle stesse, ad evitare la possibile riduzione del potenziale riproduttivo della popolazione, a tenere sotto controllo le famiglie ed evitare di risolvere problemi legati agli accoppiamenti in consanguineità, altra causa di riduzione di fertilità e di propagazione di anomalie genetiche.



Metafase di cellula di esemplare maschio di Bufala (*Bubalus Bubalis*, $2n=50$, XY) colorata con tecnica di Bandeggio CBA



Metafase di cellula di esemplare maschio di Bufala (*Bubalus Bubalis*, $2n=50$, XY) colorata con tecnica di Bandeggio RBA.



Cariotipo di esemplare maschio di Bufala (*Bubalus Bubalis*, $2n=50$, XY) con tecnica di Bandeggio RBA.

Bibliografia

Di Meo GP, Perucatti A, Di Palo R, Iannuzzi A, Ciotola F, Peretti V, Neglia G, Campanile G, Zicarelli L, Iannuzzi L. Sex chromosome abnormalities and sterility in river buffalo. *Cytogenet Genome Res.* 2008;120(1-2):127-31. doi: 10.1159/000118751. Epub 2008 Apr 30. PMID: 18467836.

Udroiu I, Sgura A. Cytogenetic tests for animal production: state of the art and perspectives. *Anim Genet.* 2017 Oct;48(5):505-515. doi: 10.1111/age.12581. Epub 2017 Jul 25. PMID: 28741802.

Albarella S, Ciotola F, Coletta A, Genualdo V, Iannuzzi L, Peretti V. A new translocation $t(1p;18)$ in an Italian

Mediterranean river buffalo (*Bubalus bubalis*, $2n = 50$) bull: cytogenetic, fertility and inheritance studies. *Cytogenet Genome Res.* 2013;139(1):17-21. doi: 10.1159/000342360. Epub 2012 Sep 12. PMID: 22986410.

Fonte:

<https://www.ruminantia.it/bufala-mediterranea-italiana-limportanza-dellanalisi-del-cariotipo/>

Autore dell'articolo: dr Emanuele D'Anza