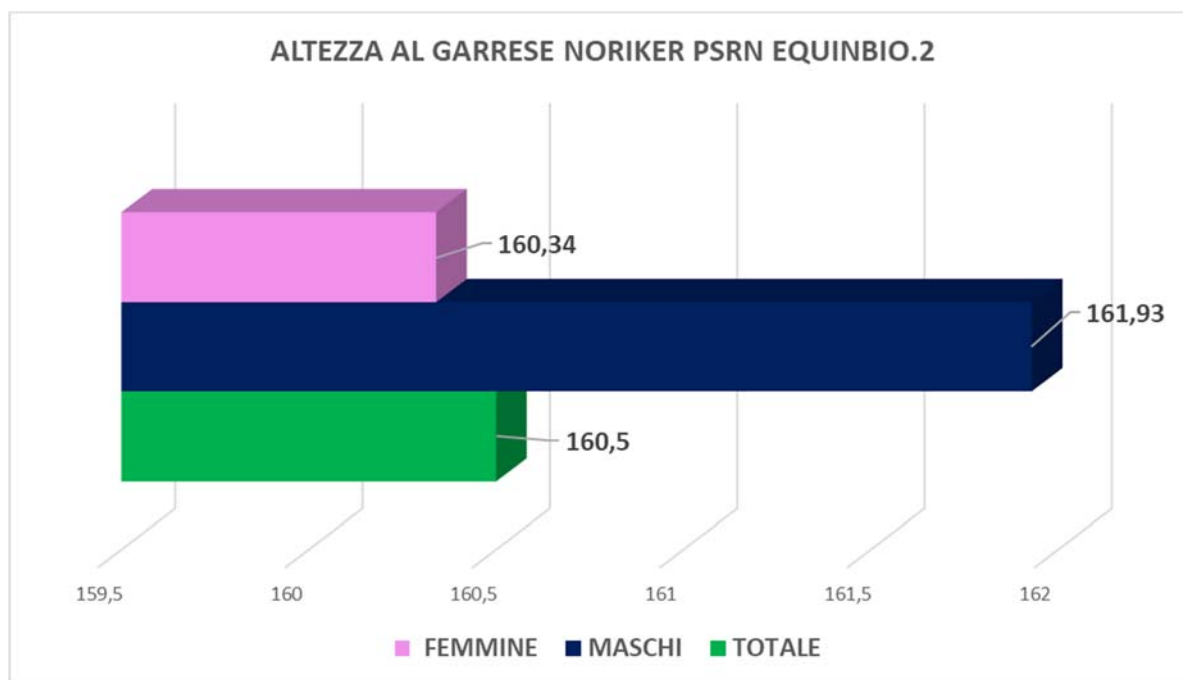


## ANALISI STATISTICA DEI DATI RILEVATI PRSN EQUINBIO.2 - NORIKER

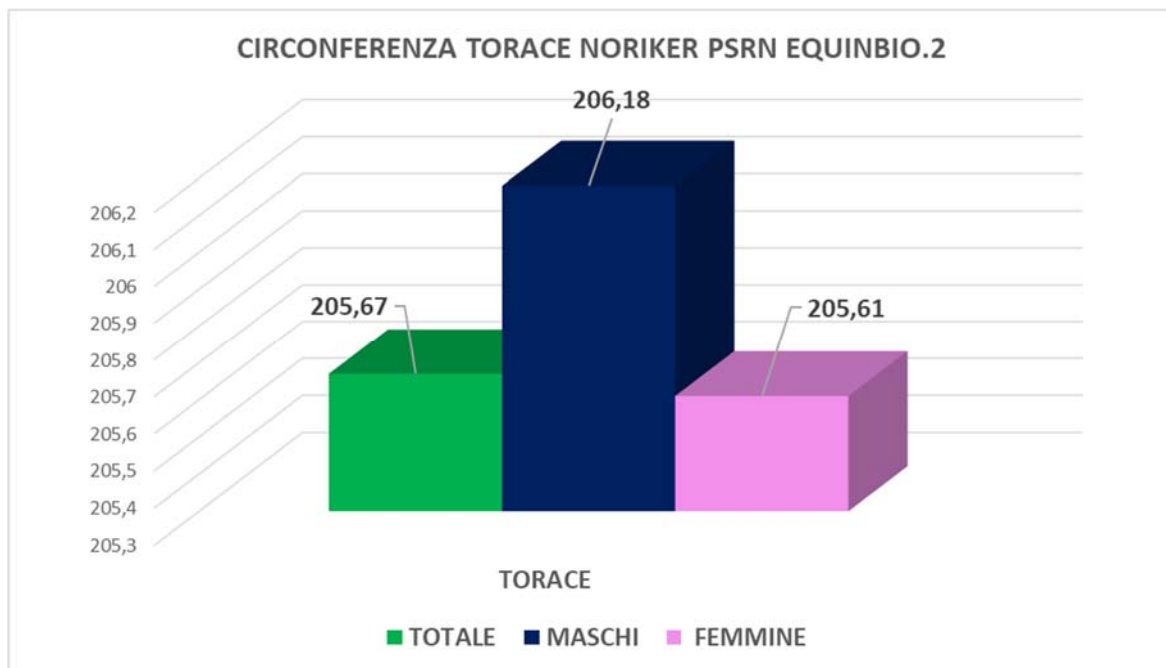
L'analisi statistica dei dati rilevati su 160 cavalli Noriker rappresenta un fondamentale strumento per comprendere le caratteristiche biometriche e le valutazioni dei soggetti presentati nel periodo dal 2020 al 2023. I grafici relativi ai dati biometrici non evidenziano differenze significative tra i sessi: i soggetti maschi tendono ad avere misure leggermente maggiori rispetto alle femmine, come in tutte le altre razze infatti, sono superiori nei diametri e nell'altezza.



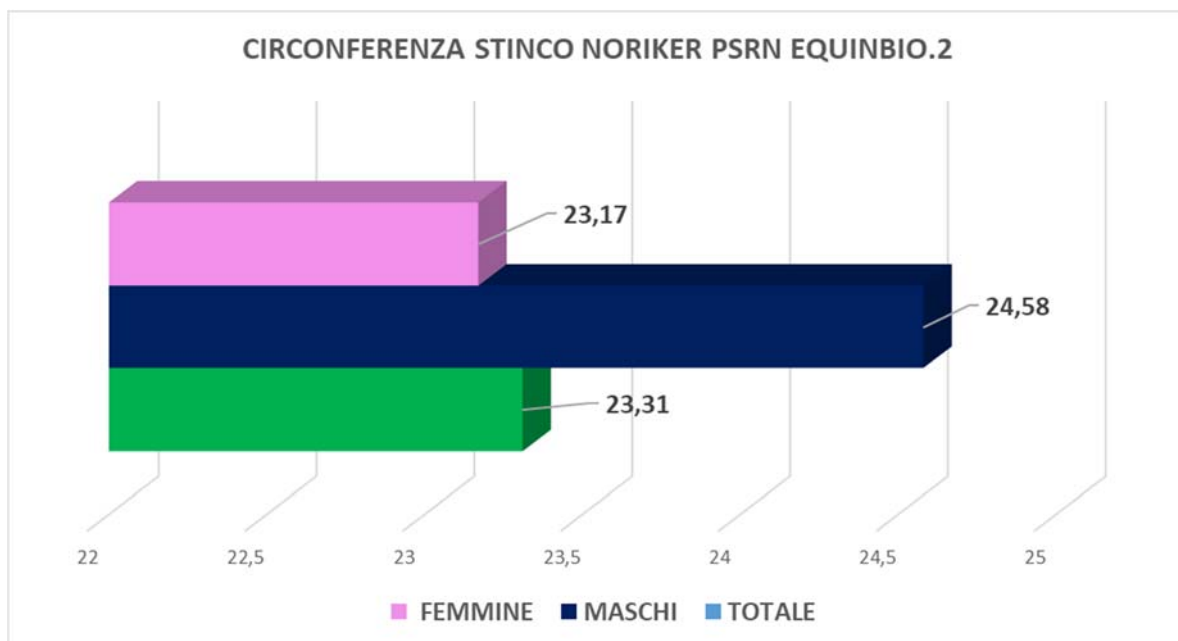
Le statistiche riguardanti la qualità dei soggetti rivelano un quadro confortante per quanto riguarda le caratteristiche strutturali e di tipicità di razza dei cavalli Noriker. Tuttavia, emergono problematiche significative legate agli arti e al movimento, che rappresentano delle criticità importanti in termini di benessere degli animali e di loro longevità. È imperativo che l'attenzione si concentri su queste carenze, al fine di implementare interventi mirati che migliorino l'equilibrio degli appiombi e il movimento dei cavalli Noriker in Italia.

Questi dati forniscono una base solida per l'adozione di misure correttive e preventive volte a garantire il benessere e la salute della razza Noriker, nonché a preservarne le caratteristiche distintive. È fondamentale che vengano sviluppati strumenti e programmi specifici per affrontare queste problematiche, coinvolgendo attivamente gli allevatori e gli esperti del settore per raggiungere risultati tangibili nel miglioramento della salute e della longevità di questa razza equina. A tal fine ANACRHAi già nel 2024 ha messo in preventivo di elaborare con la Dott.ssa Antonia Bianca Samorè dei nuovi indici genetici proprio riguardanti la correttezza degli arti e appiombi e le andature al passo e al trotto.

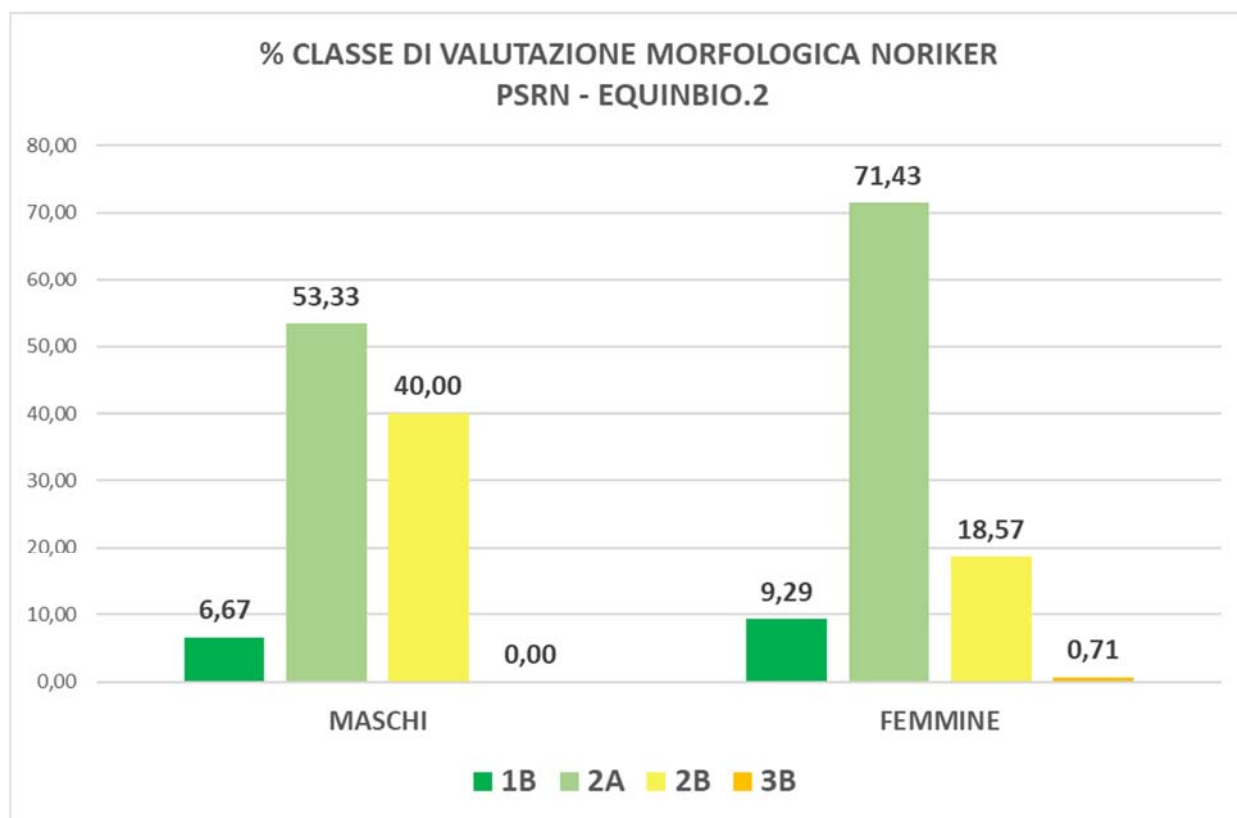
Di seguito si riportano grafici statistici, riguardanti i rilevamenti biometrici dell'anno 2023 e i grafici concernenti le valutazioni dei soggetti presentati nel triennio dal 2020 al 2023.



Le statistiche relative alla qualità dei soggetti, che si evincono dalle schede di valutazione morfologica redatte dagli esperti di razza incaricati nelle varie rassegne, ci presentano un quadro generale mediamente buono, con la grande percentuale dei soggetti valutati che si attesta in tale classe di merito (IIA – Buono). Per estremi vediamo quanto siano quasi sparite le valutazioni più basse (terza classe) a dimostrazione del fatto che qualitativamente la selezione ha spostato la media sulla maggior qualità. I migliori soggetti, appartenenti per valutazione fenotipica e morfo-funzionale alla Prima Classe sono ancora pochi rispetto ai soggetti presi in esame in questo quadriennio, ma la pregiudiziale che rilega in seconda classe tanti validi soggetti, è quasi sempre riscontrabile e riconducibile a difetti e problemi legati ad arti appiombi e movimento.



Le valutazioni morfologiche dei cavalli Noriker forniscono preziose informazioni sulla selezione e la qualità degli esemplari all'interno della razza. La selezione è particolarmente severa per i maschi, principalmente a causa della loro capacità riproduttiva, che permette loro di coprire molte più fattrici rispetto ai puledri che può produrre in un anno una fattrice. Questo aspetto rende essenziale una selezione rigorosa per garantire il miglioramento genetico della razza.



Analizzando i dati relativi ai maschi valutati negli ultimi tre anni, emerge che il 6,67% appartiene alla classe di merito I<sup>a</sup> Classe B, il 53,33% alla II<sup>a</sup> Classe A e il restante 40,00% alla II<sup>a</sup> Classe B. Questi numeri suggeriscono una distribuzione variegata della qualità tra gli esemplari maschi, con una predominanza di soggetti appartenenti alla classe II<sup>a</sup> Classe A.

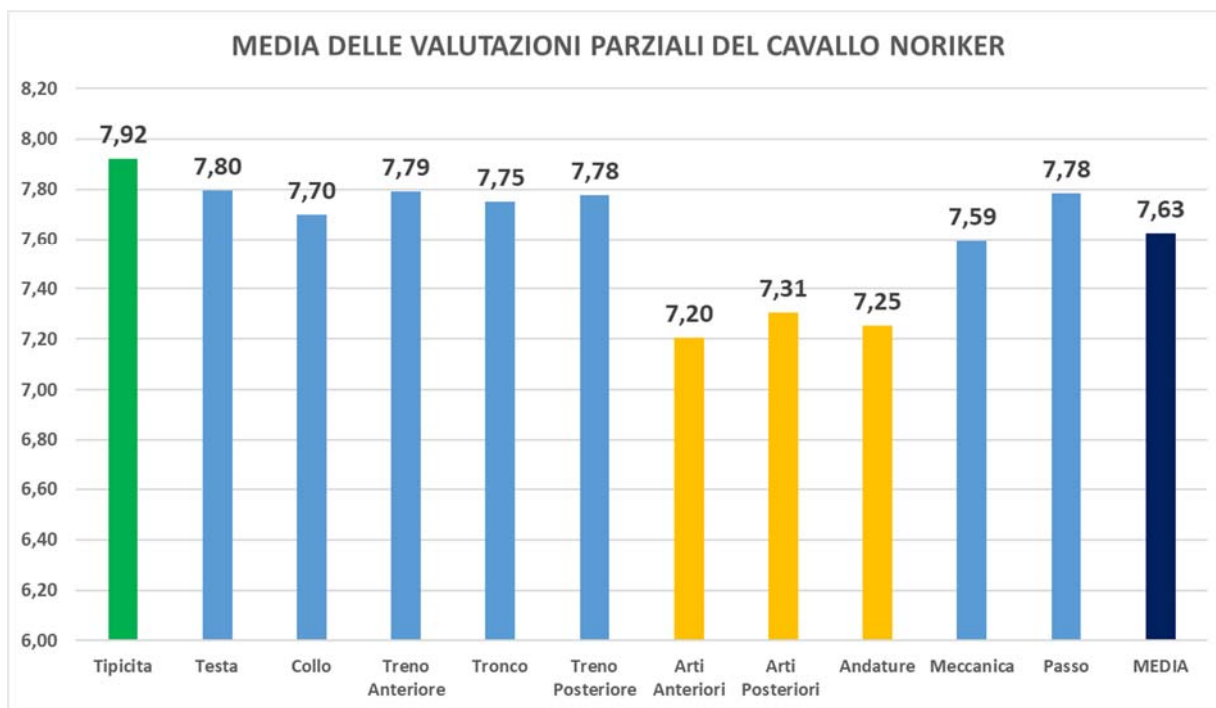
D'altra parte, considerando le fattrici iscritte al libro Genealogico, si osserva una distribuzione leggermente diversa: il 9,29% appartiene alla I<sup>a</sup> Classe B, il 71,43% alla II<sup>a</sup> Classe A, il 18,57% alla II<sup>a</sup> Classe B e solo lo 0,71% alla II<sup>a</sup> Classe. Questi dati evidenziano una maggiore prevalenza di fattrici di qualità superiore, con una percentuale meno significativa classificata nella II<sup>a</sup> Classe B.

Le classi di merito vengono determinate sulla base del punteggio complessivo ottenuto nelle 11 voci parziali presenti nella scheda morfologica di ciascun soggetto (grafico foto sotto). Questi punteggi consentono una suddivisione ulteriore dei soggetti in sotto-classi di merito, che vanno dalla 1A alla 3B, con valori di media del punteggio associati a ciascuna classe.

L'analisi approfondita delle valutazioni parziali dei cavalli Noriker rivela due aspetti fondamentali che forniscono importanti spunti per futuri studi scientifici.

Innanzitutto, è significativo notare che il punteggio medio di tipicità si attesta a 7,92 punti. Questo dato indica che la maggioranza dei soggetti sottoposti a valutazione presenta caratteristiche tipiche ben definite della razza Noriker. Tale risultato è estremamente positivo, in quanto identifica in modo accurato il fenotipo distintivo del cavallo Noriker, fornendo una base solida per la sua classificazione e selezione.

Tuttavia, alcuni dati destano preoccupazione, in particolare quelli relativi agli arti anteriori e posteriori, nonché alla correttezza delle andature.



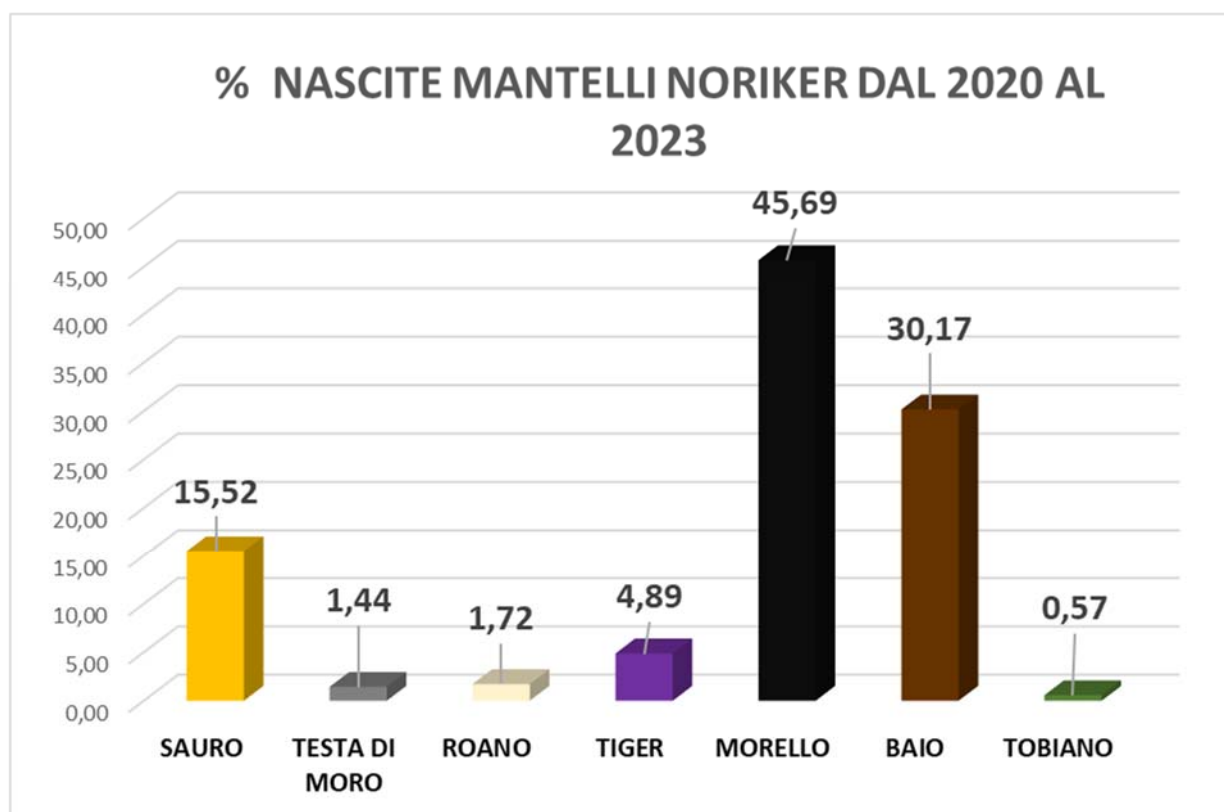
Gli arti anteriori presentano un punteggio medio di soli 7,20 punti, mentre gli arti posteriori raggiungono una media di 7,31 punti. Questi valori indicano una tendenza verso una valutazione meno favorevole per la conformazione degli arti, suggerendo la presenza di difetti o imperfezioni che potrebbero influenzare le prestazioni e il benessere del cavallo.

Analogamente, la media di 7,25 punti nella correttezza delle andature evidenzia una situazione che richiede attenzione. È importante notare che la maggior parte dei soggetti valutati presenta degli arti cagnoli, che possono compromettere la regolarità e l'efficienza del movimento.

In particolare, la presenza di arti cagnoli, che escono dalle piste durante il movimento e prima dell'appoggio tendono a falciare per rientrare sulle proprie piste. Questo rappresenta una criticità che richiede un'approfondita analisi e interventi mirati per correggere o mitigare questa condizione. In conclusione, mentre la valutazione complessiva della tipicità dei cavalli Noriker è positiva, è necessario concentrarsi sul miglioramento della conformazione degli arti e sulla correttezza delle andature per garantire il benessere e le prestazioni ottimali della razza. Questi risultati forniscono importanti indicazioni per orientare futuri studi scientifici e interventi mirati nell'allevamento e nella gestione dei cavalli Noriker.

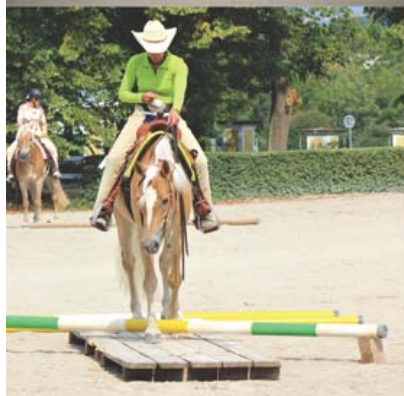


Con la collaborazione dell'Università di Perugia, sono stati analizzati i mantelli del cavallo Noriker per arrivare a decifrare determinati caratteri dominanti o recessivi della straordinaria variabilità di tale aspetto in questa razza. Da 2020 al 2023 sono state registrate 348 nascite con i seguenti mantelli: 17 Tiger 105 Baio, 159 Morello, 2 Tobiano, 6 Roano, 5 Testa di moro. In particolare possiamo dire che il 75,86 % , ovvero i  $\frac{3}{4}$  dei soggetti, hanno un mantello Morello o Baio e sono invece da monitorare i mantelli che pian piano stanno scomparendo dalla Razza :il Testa di Moro con una percentuale del 1,44%, il Roano con 1,72% e il Tobiano con solo lo 0,57%. Questa è la testimonianza di grande variabilità di tale carattere, che comunque ha degli indicatori di ciò che più viene ricercato e di ciò che invece va a prescindere salvaguardato e monitorato. Avere dati scientifici che ci supportano è prezioso per cercare di avere quanti più strumenti a disposizione al fine di tutelare e salvaguardare tale particolare aspetto della variabilità genetica e fenotipica del cavallo Noriker.



## MATERIALE DIVULGATIVO – SITO WEB DATABASE ON-LINE CAVALLO HAFLINGER

E' stato ristampato il depliant informativo del Cavallo Haflinger relativo al progetto Equinbio.2 che è anche stato distribuito in occasione di Raduni, Rassegne e Manifestazioni. Le evidenze della partecipazione sono verificabili sul sito [www.haflinger.it](http://www.haflinger.it). Il sito internet è stato aggiornato sia da un punto di vista grafico che a livello di contenuti e database. Sono stati aggiornati anche tutti i regolamenti ed è stato aggiornato e implementato per gli allevatori il programma WEB-HAFLINGER/NORIKER dove sono stati inseriti tutti i database dei soggetti Noriker consultabili dall'allevatori sul nostro sito web.



### IL CAVALLO HAFLINGER: PATRIMONIO ITALIANO DI BIODIVERSITA'

Grazie al progetto PSRN EQUINBIO.2, ANACRHA ha cercato di costruire e sta cercando di implementare la raccolta di dati fenotipici e biologici al fine di approfondire ricerche scientifiche e statistiche volte a ricercare nuovi orizzonti di selezione, nonché porre le basi per tutelare la variabilità genetica. Questionari, nuovi dati biometrici e genotipizzazione sono solo alcuni degli aspetti che andranno ad aumentare gli strumenti da mettere a disposizione degli allevatori. La selezione fatta in purezza negli ultimi 30 anni ci ha dato un cavallo decisamente migliore per i fini ludici e sportivi, ma altresì ha ridotto la biodiversità in maniera sensibile. E' ormai consolidato il rapporto con l'Università degli Studi di Perugia col Centro di ricerca sul cavallo sportivo del dipartimento di medicina veterinaria, con il quale è intenso lo scambio di informazioni e ricerche.



Inoltre i nostri database saranno implementati di tali indicazioni aggiuntive al fine di incentivare la produzione di soggetti solidi, ben strutturati e dotati di ottime capacità di adattamento ambientale così da garantire valide capacità d'impiego duraturo e nel rispetto del benessere animale. Oltre che consolidare le caratteristiche di tipicità della razza, valutare la consanguineità ed elaborare relativi piani di accoppiamento, salvaguardare la variabilità genetica con azioni volte al recupero di linee genetiche rare. Salute, Biodiversità, Qualità. Questi sono gli obiettivi in sintesi affinché la razza Haflinger migliori ancora e sia ancor più apprezzata in tutto il Mondo.

**A. N. A. C. R. H. A. I.**  
Viale Kennedy, 182  
50038 Scarperia (PI)  
Tel. 055-4627295 - Fax: 055-4628717  
[www.haflinger.it](http://www.haflinger.it) - e-mail: [anacra@haflinger.it](mailto:anacra@haflinger.it)



**mipaaf**  
ministero delle  
politiche agricole  
alimentari e forestali

**FEASR**

FONDO EUROPEO AGRICOLA PER LO SVILUPPO RURALE  
L'Europa investe nelle zone rurali

## CONSANGUINEITÀ GENOMICA

La consanguineità è stata calcolata sulla base dei dati genomici per 280 soggetti Haflinger comprendenti tutte le genotipizzazioni in possesso dell'unità di ricerca

I coefficienti di consanguineità genomica sono stati calcolati attraverso la valutazione delle cosiddette Runs of Homozygosity (ROH).

Le ROH sono tratti di genoma contigui in omozigosi. Possono derivare dall'accoppiamento di due individui imparentati che trasmettono alla prole alplotipi identici. I segmenti ROH lunghi sono spesso associati a una consanguineità recente, mentre quelli corti sono legati a una consanguineità antica, a causa della maggiore probabilità che si verifichino eventi di ricombinazione all'aumentare del numero di generazioni (Eusebi, Martinez, e Cortes 2020).

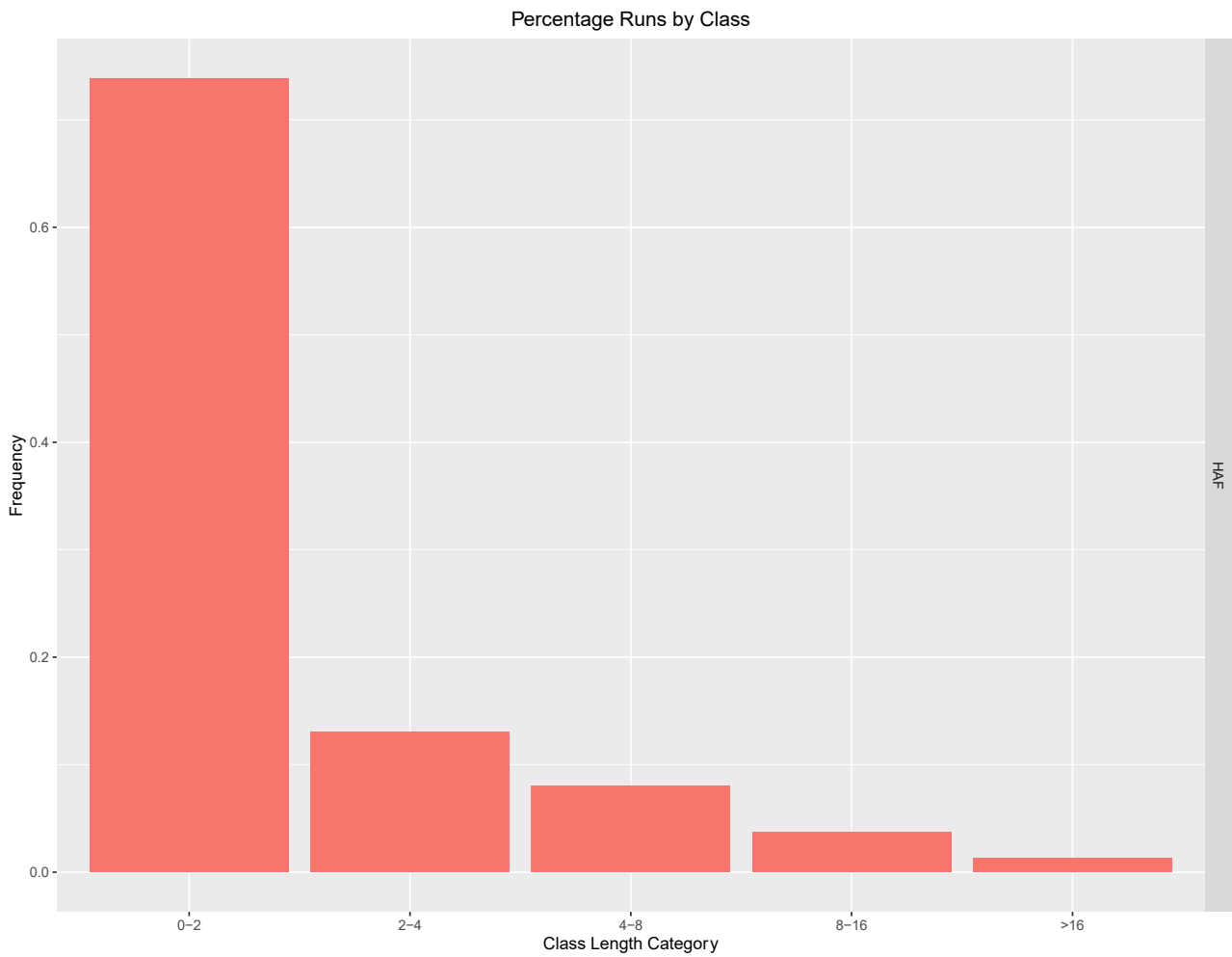
Utilizzando il software PLINK (Purcell et al. 2007; Chang et al. 2015) e il pacchetto DetectRUNS in R (Biscarini et al. 2019) e settando i seguenti parametri (minimo 15 SNP in una ROH, lunghezza minima pari a 500Kb, un limite di densità non inferiore a uno SNP per 100 kb e consentendo un massimo di un SNP mancante e uno eterozigote in una ROH) si è proceduto al calcolo.

I coefficienti di consanguineità genomica ( $F_{ROH}$ ) sono in effetti la proporzione di genoma individuale coperta da ROH sulla lunghezza dell'intero genoma.

In dipendenza della lunghezza, una ROH può dare anche la stima di quando l'evento di omozigosi si è verificato: ROH lunga > evento recente, ROH corta > evento meno recente.  $F_{ROH}$  è stato espresso per cinque classi lunghezza (0-2 Mbp, da 2-4 Mbp, 4-8 Mbp, 8-16 Mbp, >16 Mbp).

**Tabella 1.** Valore  $F_{ROH}$  per classe di lunghezza (valore espresso in megabasi).

Classe 0-2	Classe 2-4	Classe 4-8	Classe 8-16	Classe >16
0,20	0,14	0,11	0,03	0,06



**Figura 1:** Istogramma rappresentante la percentuale di ROH per classe di lunghezza.

Dalle figura 1 e 2 si evince che la grande maggioranza delle ROH sono di piccole dimensioni e distribuite equamente in tutto il genoma.



Mean Length (Mb) by Chromosome

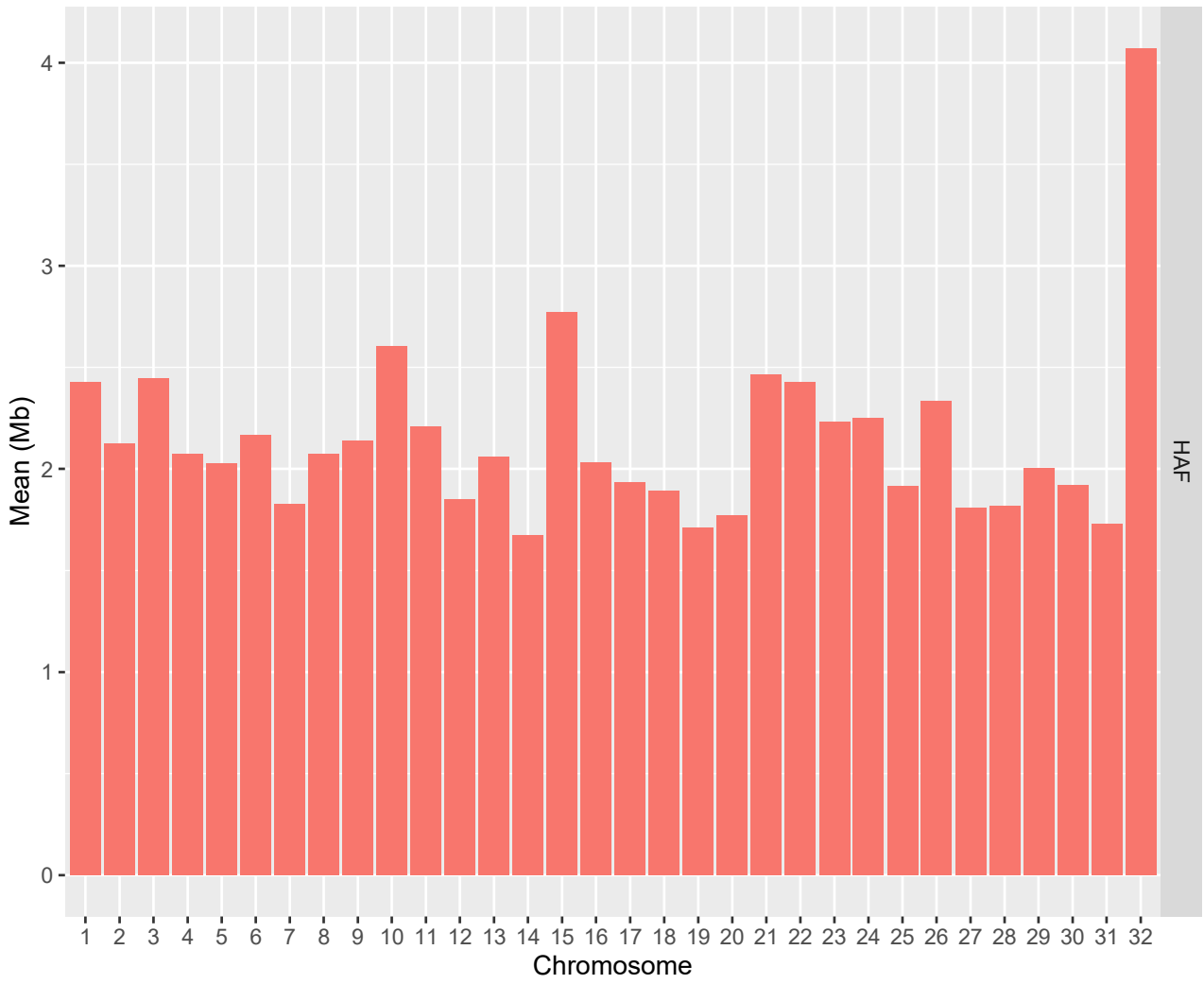
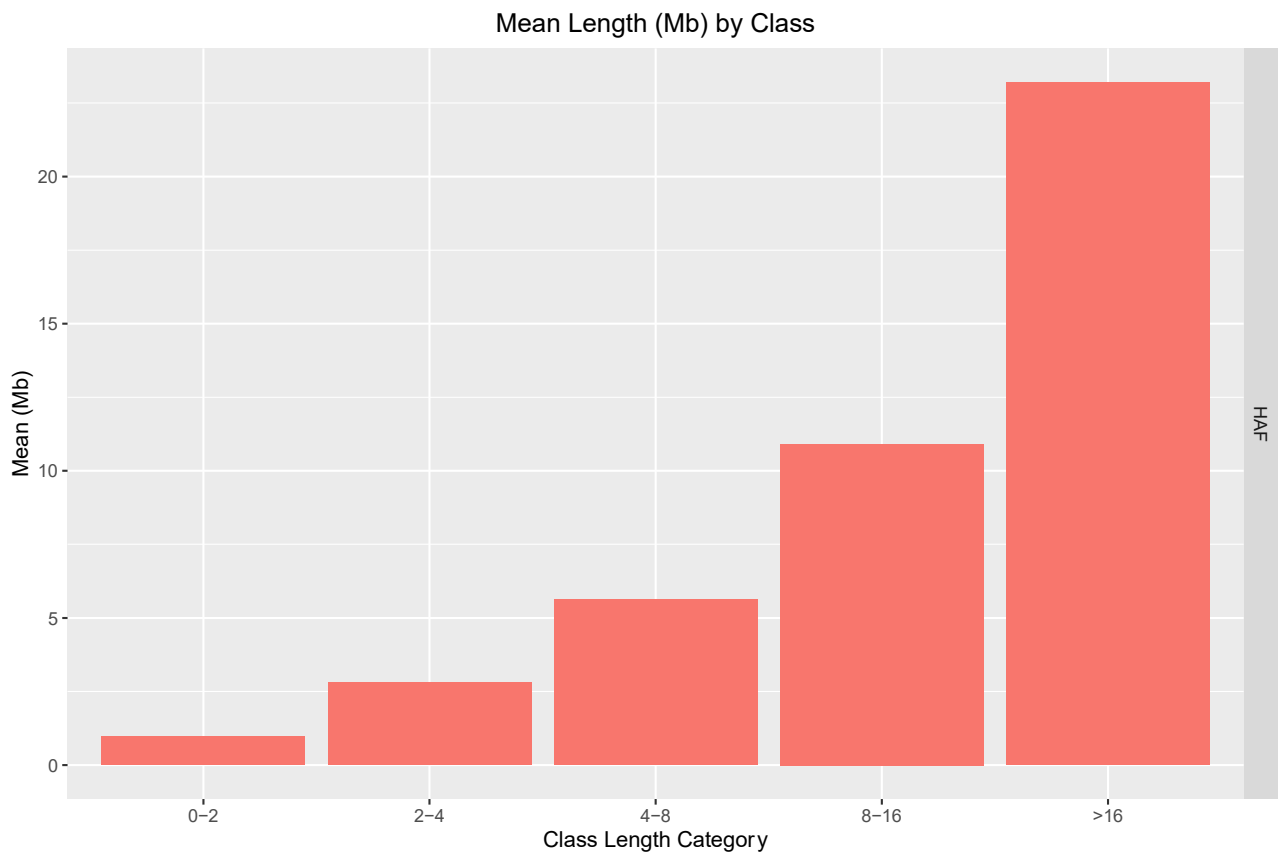
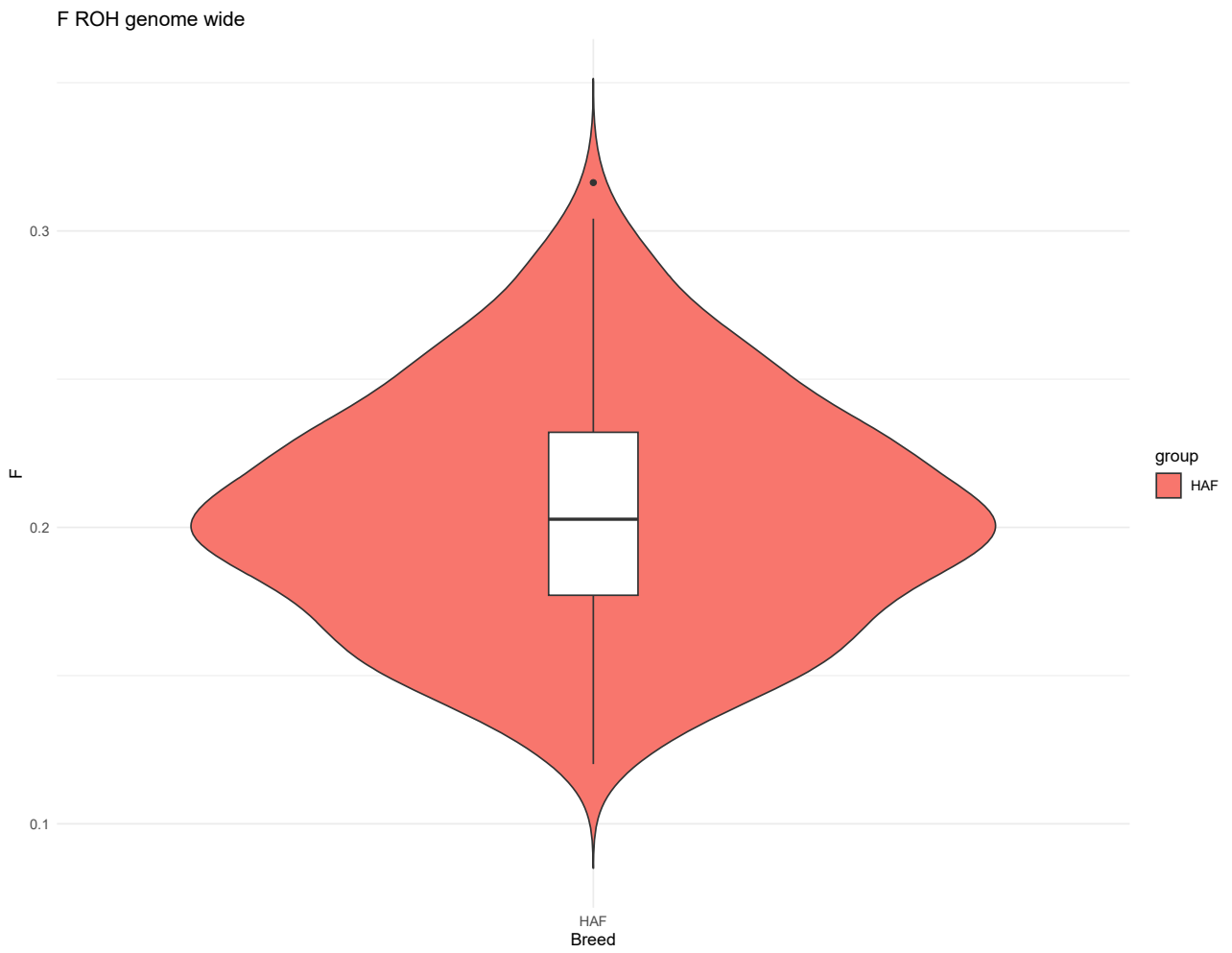


Figura 2: Distribuzione delle ROH per cromosoma.



**Figura 3:** Lunghezza media delle ROH per classe.

La media complessiva di  $F_{ROH}$  è risultata uguale a 0,204 (DS=0,04) in tutta la popolazione. La tabella sotto riportata fornisce invece il quadro individuale di inbreeding genomico.



**Figura 4:** violin plot del valore FROH di tutta la popolazione Haflinger genotipizzata.

**Tabella 2.** Valore di inbreeding genomico per soggetto.

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
18EQ10016/01	0,14
18EQ10018/01	0,21
18EQ10020/01	0,22
18EQ10021/01	0,15
18EQ10022/01	0,20
18EQ10023/01	0,19
18EQ10024/01	0,17
18EQ10025/01	0,15
18EQ10027/01	0,20
18EQ10028/01	0,29
18EQ10029/01	0,24
18EQ10030/01	0,25
18EQ10031/01	0,20
18EQ10032/01	0,22
18EQ10033/01	0,26
18EQ10034/01	0,24
18EQ10035/01	0,21
18EQ10036/01	0,27
18EQ10037/01	0,20
18EQ10038/01	0,23
18EQ10039/01	0,22
18EQ10040/01	0,21
18EQ10041/01	0,25
18EQ10042/01	0,29
18EQ10043/01	0,22
18EQ10044/01	0,22

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
18EQ10045/01	0,25
18EQ10046/01	0,23
18EQ10047/01	0,25
18EQ10048/01	0,26
18EQ10050/01	0,24
18EQ10144/01	0,19
18EQ10147/01	0,22
18EQ10148/01	0,21
18EQ10149/02	0,28
18EQ10150/02	0,26
18EQ10151/02	0,27
18EQ10152/02	0,21
18EQ10153/01	0,26
18EQ10154/01	0,23
18EQ10155/02	0,23
18EQ10156/01	0,21
18EQ10156/02	0,23
18EQ10157/01	0,25
18EQ10158/01	0,20
18EQ10159/01	0,25
18EQ10160/01	0,22
18EQ10161/01	0,25
18EQ10267/01	0,24
18EQ10268/01	0,25
18EQ10269/01	0,18
18EQ10270/01	0,16
18EQ10271/01	0,16
18EQ10272/01	0,16
18EQ10273/01	0,16

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
18EQ10274/01	0,14
18EQ10275/01	0,20
18EQ10276/01	0,19
18EQ10277/01	0,17
18EQ10278/01	0,18
18EQ10279/01	0,15
18EQ10280/01	0,16
18EQ10281/01	0,19
18EQ10282/01	0,20
18EQ10283/01	0,18
18EQ10284/01	0,19
18EQ10285/01	0,29
18EQ10286/01	0,18
18EQ10287/01	0,18
18EQ10288/01	0,23
18EQ10289/01	0,15
18EQ10290/01	0,18
19EQ30259/02	0,18
19EQ30260/02	0,12
19EQ30261/01	0,18
19EQ30262/01	0,19
19EQ30263/01	0,19
19EQ30264/01	0,15
19EQ30265/01	0,19
19EQ30266/01	0,19
19EQ30267/01	0,24
19EQ30268/01	0,26
19EQ30269/01	0,20
19EQ30270/01	0,18

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
19EQ30271/01	0,12
19EQ30272/01	0,16
19EQ30273/01	0,17
19EQ30274/01	0,15
19EQ30275/01	0,13
19EQ30276/01	0,17
19EQ30277/01	0,21
19EQ30279/01	0,26
19EQ30281/01	0,24
19EQ30283/01	0,20
19EQ30284/01	0,16
19EQ30285/02	0,22
19EQ30286/01	0,19
19EQ30287/01	0,21
19EQ30288/01	0,23
19EQ30290/02	0,30
19EQ30292/02	0,25
19EQ30293/01	0,19
19EQ30294/01	0,24
19EQ30295/01	0,23
19EQ30296/01	0,20
19EQ30298/01	0,17
19EQ30299/01	0,25
19EQ30300/02	0,18
19EQ30301/02	0,17
19EQ30303/02	0,18
19EQ30304/01	0,18
19EQ30305/01	0,19
19EQ30306/01	0,32

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
19EQ30307/02	0,20
19EQ30308/01	0,16
19EQ30309/01	0,15
19EQ30311/01	0,14
19EQ30312/01	0,18
19EQ30313/01	0,16
19EQ30314/01	0,17
19EQ30409/01	0,18
19EQ30410/01	0,15
19EQ30411/01	0,16
19EQ30412/01	0,16
19EQ30414/01	0,23
19EQ30415/01	0,21
19EQ30416/01	0,16
19EQ30417/01	0,21
19EQ30418/01	0,23
19EQ30419/01	0,20
19EQ30420/01	0,16
19EQ30421/02	0,20
19EQ30422/01	0,17
19EQ30435/01	0,18
19EQ30436/01	0,18
19EQ30437/01	0,20
19EQ30438/01	0,15
19EQ30986/01	0,23
19EQ30987/01	0,21
19EQ30988/01	0,23
19EQ30989/01	0,21
19EQ30990/01	0,21

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
19EQ30991/01	0,23
19EQ30992/01	0,28
19EQ30993/01	0,29
19EQ30994/01	0,22
19EQ30995/01	0,23
19EQ30996/01	0,22
19EQ30997/01	0,23
19EQ30998/01	0,16
19EQ30999/01	0,19
19EQ31000/01	0,22
19EQ31001/01	0,18
19EQ31002/01	0,22
19EQ31003/01	0,23
19EQ31004/01	0,26
19EQ31005/01	0,21
19EQ31006/01	0,17
19EQ31007/01	0,16
19EQ31008/01	0,21
19EQ31009/01	0,20
19EQ31066/01	0,21
19EQ31067/01	0,27
19EQ31068/01	0,20
19EQ31069/01	0,13
19EQ31070/01	0,22
19EQ31071/01	0,19
19EQ31072/01	0,16
19EQ31073/01	0,22
19EQ31074/01	0,15
19EQ31075/01	0,17

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
19EQ31076/01	0,24
19EQ31077/01	0,13
20EQ30001/01	0,23
20EQ30002/01	0,20
20EQ30003/01	0,20
20EQ30004/01	0,20
20EQ30005/01	0,22
20EQ30006/01	0,16
20EQ30007/01	0,21
20EQ30008/01	0,22
20EQ30009/01	0,14
20EQ30010/01	0,15
20EQ30011/01	0,17
20EQ30013/01	0,20
20EQ30014/01	0,17
20EQ30015/01	0,15
20EQ30016/01	0,19
20EQ30017/01	0,19
20EQ30018/01	0,21
20EQ30019/01	0,20
20EQ30020/01	0,14
20EQ30021/01	0,18
20EQ30022/01	0,13
20EQ30023/01	0,13
20EQ30024/01	0,17
20EQ30025/01	0,19
20EQ30026/01	0,20
20EQ30027/01	0,20
20EQ30028/01	0,21

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
20EQ30029/01	0,19
20EQ30030/01	0,19
20EQ30031/01	0,20
20EQ30032/01	0,16
20EQ30033/01	0,19
20EQ30034/01	0,22
20EQ30035/01	0,22
20EQ30036/01	0,17
20EQ30037/01	0,24
20EQ30038/01	0,22
20EQ30039/01	0,14
20EQ30040/01	0,17
20EQ30041/01	0,20
20EQ30042/01	0,19
20EQ30043/01	0,13
20EQ30044/01	0,18
20EQ30045/01	0,15
20EQ30046/01	0,25
20EQ30048/01	0,15
20EQ30093/01	0,19
20EQ30095/01	0,14
22EQ11435/03	0,21
22EQ11440/03	0,15
22EQ11466/03	0,22
22EQ11472/03	0,21
22EQ11475/03	0,27
22EQ11477/03	0,17
22EQ11479/04	0,27
22EQ11480/03	0,27

AGROTIS_ID	Froh_genome (%)
22EQ11484/03	0,19
23EQ00247/03	0,23
23EQ00248/03	0,26
23EQ00249/03	0,25
23EQ00250/03	0,18
23EQ00251/03	0,20
23EQ00252/03	0,21
23EQ00253/03	0,28
23EQ00254/03	0,24
23EQ00255/03	0,29
23EQ00256/03	0,30
23EQ00257/03	0,23
23EQ00258/03	0,20
23EQ00259/03	0,23
23EQ00260/03	0,27
23EQ00261/03	0,26
23EQ00263/03	0,27
23EQ00264/03	0,24
23EQ00265/03	0,25
23EQ00266/03	0,25
23EQ00268/03	0,27
23EQ00270/04	0,26
23EQ00641/03	0,24
23EQ00642/03	0,28
23EQ00645/03	0,21
23EQ00646/03	0,17
23EQ00647/03	0,23
23EQ00784/03	0,19
23EQ00812/03	0,21

<b>AGROTIS_ID</b>	<b>Froh_genome (%)</b>
23EQ00814/03	0,20
23EQ00821/03	0,19
23EQ00822/03	0,20
23EQ00823/03	0,25
23EQ00829/04	0,22
23EQ00832/03	0,15
23EQ00833/03	0,14
23EQ00834/03	0,20
23EQ00835/03	0,25
23EQ00953/03	0,22
23EQ00954/03	0,23
23EQ00955/03	0,21
23EQ00956/03	0,28
23EQ00957/03	0,18
23EQ00958/03	0,18
23EQ01096/03	0,29
23EQ01285/04	0,22
23EQ01297/03	0,23
23EQ01298/03	0,19
23EQ01299/03	0,21
23EQ01302/03	0,19

## Bibliografia essenziale

- Biscarini, Filippo, Paolo Cozzi, Giustino Gaspa, e Gabriele Marras. 2019. *detectRUNS: Detect Runs of Homozygosity and Runs of Heterozygosity in Diploid Genomes*. <https://CRAN.R-project.org/package=detectRUNS>.
- Chang, Christopher C, Carson C Chow, Laurent CAM Tellier, Shashaank Vattikuti, Shaun M Purcell, e James J Lee. 2015. «Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets». *GigaScience* 4 (1): s13742-015-0047-0048. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>.
- Eusebi, Paulina G., Amparo Martinez, e Oscar Cortes. 2020. «Genomic Tools for Effective Conservation of Livestock Breed Diversity». *Diversity* 12 (1): 8. <https://doi.org/10.3390/d12010008>.
- Purcell, Shaun, Benjamin Neale, Kathe Todd-Brown, Lori Thomas, Manuel AR Ferreira, David Bender, Julian Maller, Pamela Sklar, Paul IW De Bakker, e Mark J. Daly. 2007. «PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses». *The American journal of human genetics* 81 (3): 559–75.



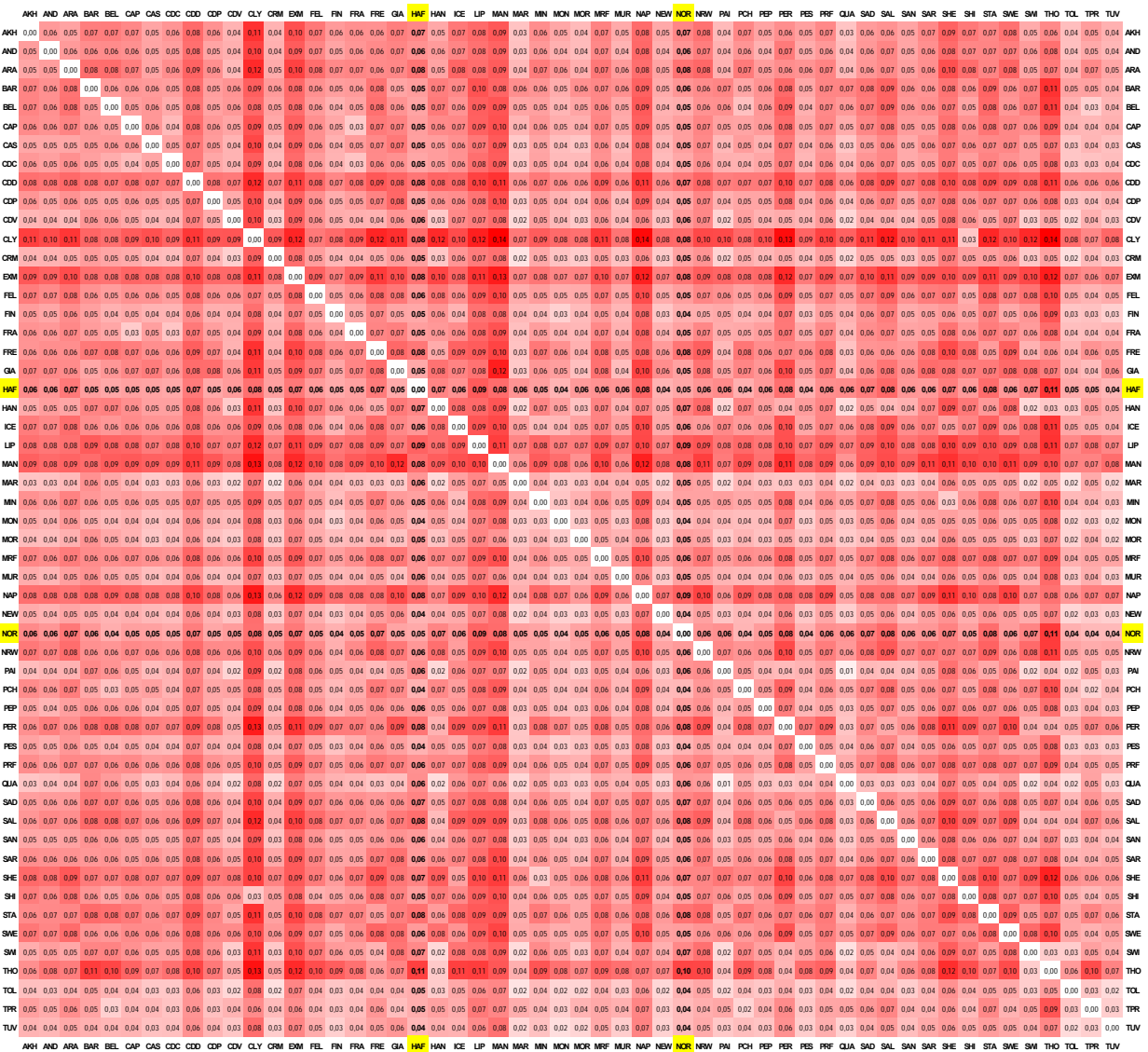
# DISTANZA GENETICA E MESCOLAMENTO

Le distanze genetiche tra popolazioni si riferiscono alla misura della differenza genetica tra individui o gruppi all'interno di una stessa specie. Nel nostro caso, popolazioni equine, utilizziamo le razze come raggruppamenti omogenei per calcolare le suddette distanze. La stima della distanza è tanto più precisa quanto maggiori sono le informazioni (in questo caso, le varianti).

Per il calcolo delle distanze genetiche ( $F_{ST}$  e  $D$ ) sono stati utilizzate tutte le genotipizzazioni disponibili per le razze italiane e cosmopolite.

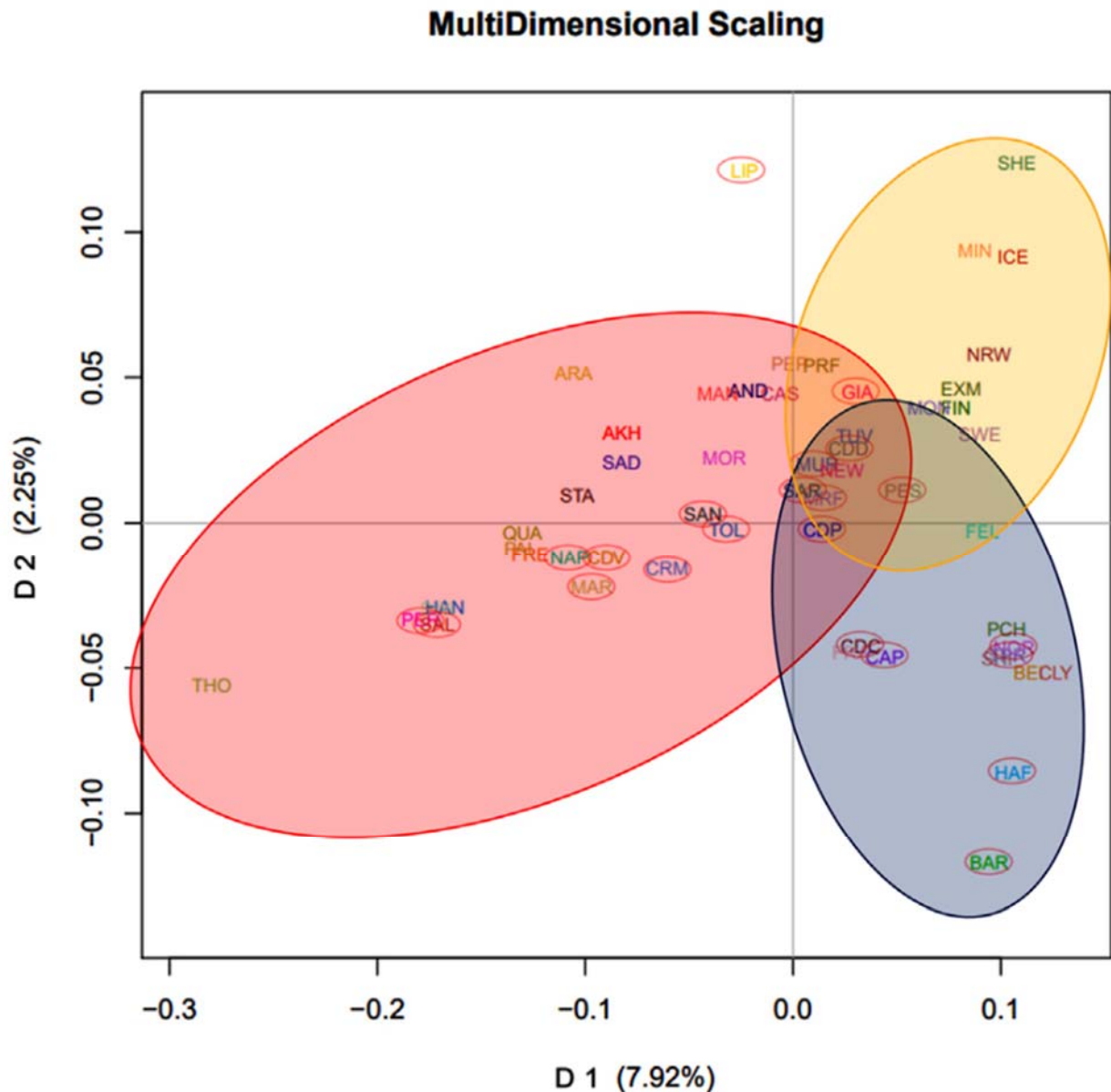
Le distanze genetiche tra le razze italiane e cosmopolite con particolare focus su Noriker e Haflinger sono state calcolate attraverso uno script in python disponibile all'unità di ricerca.

Nella Figura 1 sono riportati tutti i valori di  $F_{ST}$  e  $D$  (Distanza di Reynolds) per i confronti a coppie tra popolazioni.

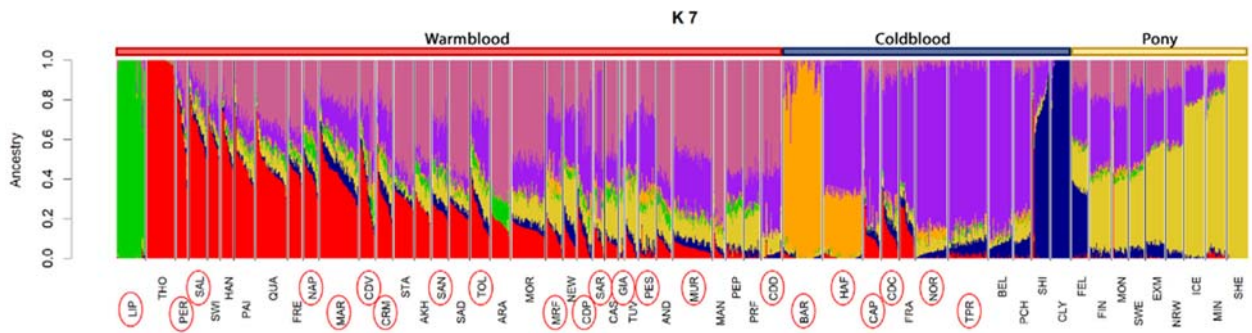


**Figura 1.** Nella figura uno sono mostrate le distanze genetiche calcolate come  $F_{ST}$  (matrice triangolare inferiore) e distanze di Reynolds  $D$  (matrice triangolare superiore). La scala di colore va dal bianco al rosso dove il bianco è il minimo (zero, 0) e il rosso è il valore massimo dell'intera matrice (0,15). Noriker (NOR) e Haflinger (HAF) sono evidenziate in giallo e i valori corrispondenti inseriti in grassetto. Le abbreviazioni sono disponibili in (Capomaccio et al. 2023). Più i valori sono prossimi a zero, meno le due popolazioni divergono. I valori maggiori osservati (> 0,10) appartengono ai confronti tra razze più lontane: ad esempio Clydesdale (CLY) vs Purosangue Inglese (THO).

Per apprezzare correttamente la diversità genetica riportiamo anche una figura dal lavoro di Capomaccio e collaboratori (Capomaccio et al. 2023) dove vengono mostrate anche le analisi di multi dimensional scaling (approccio molto simile alle analisi delle componenti principali, PCA), utili a evidenziare i cosiddetti cline di differenziazione genetica (gradienti) e di possibile mescolamento (admixture).



**Figura 2.** Grafico MDS delle coordinate della dimensione 1 (D1) e 2 (D2). Sono stati evidenziati tre gruppi: cavalli “warmblood”, cerchiati in rosso, cavalli “coldblood” cerchiati in blu e “pony”, cerchiati in giallo. Noriker (NOR) e Haflinger (HAF), sono nella parte cerchiata in blu. La popolazione Noriker è raggruppata correttamente con le popolazioni pesanti mentre Haflinger, pur essendo nello stesso cluster è nettamente distinta da quest’ultime. Anche l’analisi di struttura, che evidenzia il mescolamento, rivela che Haflinger ha una componente genomica intermedia tra le razze sportive e quelle pesanti (Figura 3). Noriker è correttamente individuato come razza “coldblood”.



**Figura 3.** Istogramma dell'analisi di mescolamento delle razze. Da Capomaccio et al 2023.

Capomaccio, Stefano, Michela Ablondi, Daniele Colombi, Cristina Sartori, Andrea Giontella, Katia Cappelli, Enrico Mancin, et al. 2023. «Exploring the Italian equine gene pool via high-throughput genotyping». *Frontiers in Genetics* 14.

<https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2023.1099896>.

## “PATENTE GENETICA”

All'interno dello SNP-CHIP utilizzato per la genotipizzazione delle razze Haflinger e Noriker sono presenti anche una serie di varianti funzionali ad alcuni caratteri / malattie di seguito sono riportati nelle Tabelle 1 e 2.

Per facilitare la comprensione del risultato ottenuto è stata prodotta una statistica riassuntiva con le percentuali di individui *wild type*, ovvero normali per la condizione in esame (quindi sani o del fenotipo più frequente), *eterozigoti* ovvero portatori di una copia della variante che caratterizza quel particolare fenotipo, oppure individui *omozigoti*, ovvero che hanno la variante in entrambi i cromosomi (materno e paterno).

È chiaro che a seconda della tipologia di eredità (autosomica recessiva, autosomica dominante o autosomica dominante incompleta) e le varie percentuali di penetranza si possano adottare strategie di accoppiamento differenti anche in base al valore degli individui interessati.

In generale, le popolazioni Haflinger e Noriker risultano avere ad alte frequenze le varianti che condizionano i fenotipi caratteristici: Leopard per il mantello nel Noriker oppure Locus *E* in Haflinger, giusto per nominarne alcuni.

Le due popolazioni sono sane ad eccezione per tre condizioni particolari: **PSSM, ovvero malattia da accumulo di polisaccaridi** altrimenti nota anche come rbdomiolisi [in tabella: PSSM Rhabdomyolysis GYS1], che è presente ad alta frequenza nel Norico e a bassa frequenza nell'Haflinger. Questa è una malattia autosomica dominante incompleta, il che significa che anche con una copia la condizione potrebbe manifestarsi.

Molti individui sono invece portatori per il **carcinoma a cellule squamose dell'occhio** [in tabella: Ocular SCC DDB2 (Ocular squamous cell carcinoma)], soprattutto nella popolazione Noriker, dove troviamo addirittura omozigoti. Essendo una malattia autosomica recessiva, andrebbero evitati accoppiamenti tra portatori che producono prole malata nel 25% dei casi. L'individuo omozigote passerà sicuramente una copia della variante alla prole.

Un'altra condizione da tenere sotto controllo è la **fibrosi epatica congenita** [in tabella: Congenital Hepatic Fibrosis], con una frequenza apprezzabile sia in Noriker che Haflinger. Anche per questa malattia, autosomica recessiva, vale la raccomandazione di evitare accoppiamenti tra portatori.

**Tabella 1.** “Patente Genetica” della popolazione Haflinger indagata per gli SNP funzionali. **Type:** tipologia di carattere; **Trait / Disease:** nome del carattere o della malattia; **WT:** Wild Type, ovvero percentuale degli individui normali / sani; **Het:** Eterozigote, ovvero percentuale degli individui che hanno una copia della variante per il carattere o la malattia; **Hom:** Omozigote, percentuale degli individui che hanno due copie della variante per il carattere o la malattia. Le condizioni con tutte le percentuali a zero sono da interpretare come genotipo non determinato.

Type	Trait / Disease	WT	Het	Hom
Body Size	Body Size ECA11	43,75%	50,00%	6,25%
Body Size	Body Size ECA3	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Body Size ECA6	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Body Size ECA9	37,50%	56,25%	6,25%
Body Size	Dwarfism ACAN 42del	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism ACAN CG	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism ACAN CT	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism ACAN delT	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism B4GALT7	100,00%	0,00%	0,00%

Body Size	Pony Size 1	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 2	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 3	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 4	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Brindle BR1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Brindle Incongenita Pigmenti	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Champagne	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Coat ancestral allele [DUN]	0,00%	50,00%	12,50%
Coat	Coat modern allele [Non-Dun 1]	0,00%	0,00%	0,00%
Coat	Coat modern allele [Non-Dun 2]	0,00%	50,00%	37,50%
Coat	Cream Dilution	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Curly hair variant 1 GA	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Curly hair variant 2 CT	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W10	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W11	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W12	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W13	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W14	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W15	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W16	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W17	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W18	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W19	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W2	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W20	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W21 [White Spotting]	75,00%	6,25%	18,75%
Coat	Dominant White allele W22 [White Spotting]	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W23 [White Spotting]	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W3	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W4	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W5	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W6	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W7	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W8	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W9	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Extension modifier	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Extension RedBlack factor [Locus E]	0,00%	0,00%	100,00%
Coat	Frame Overo Lethal White	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Incongenita pigmenti IKBKG	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Macchiato	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Night blindness Leopard Cmplx TRPM1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Ocular Defects Silver PMEL17	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	PATN1	93,75%	6,25%	0,00%
Coat	Pearl	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Recessive Black agouti [Locus A]	6,25%	25,00%	68,75%
Coat	Sabino SB1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW1	100,00%	0,00%	0,00%

Coat	Splashed White SW2	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW3	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW4	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Tobiano inv 1551 1551	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Tobiano inv 851 851	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR 1654del [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR AG [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR CT [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR delT [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR GC [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Cerebellar Abiotrophy TOE1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Congenital Hepatic Fibrosis	56,25%	43,75%	0,00%
Defect	Epidermolysis Bullosa Junctionalis	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Epidermolysis LAMA3	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Foal Immunodeficiency Syndrome	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Gilbert-Meulengracht Syndrome	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	HERDA PPIB	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Hoof wall separation SERPINB11	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Hydrocephalus B3GALNT2	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	HYPP SCN4A	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Lavendar Foal MYO5A	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Malignant Hyperthermia RYR1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Mushroom RG alt GC	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Mushroom RT ref CT ilmn	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	Myotonia CLCN1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Naked foal syndrome ST14	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	OAAM HOXD3 [Occipitoatlantoaxial Malformation]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Ocular SCC DDB2 (Ocular squamous cell carcinoma)	62,50%	37,50%	0,00%
Defect	PSSM Rhabdomyolysis GYS1	93,75%	6,25%	0,00%
Defect	Risk Factor IAS SNP1	6,25%	56,25%	37,50%
Defect	Risk Factor IAS SNP2	25,00%	43,75%	31,25%
Defect	Risk Factor Immune Mediated Myositis MYH1	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	SCID PRKDC	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Thrombasthenia ITGA2B GC	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	WFFS PLOD1	100,00%	0,00%	0,00%

**Tabella 2.** “Patente Genetica” della popolazione Noriker indagata per gli SNP funzionali. **Type:** tipologia di carattere; **Trait / Disease:** nome del carattere o della malattia; **WT:** Wild Type, ovvero percentuale degli individui normali / sani; **Het:** Eterozigote, ovvero percentuale degli individui che hanno una copia della variante per il carattere o la malattia; **Hom:** Omozigote, percentuale degli individui che hanno due copie della variante per il carattere o la malattia. Le condizioni con tutte le percentuali a zero sono da interpretare come genotipo non determinato.

Type	Trait / Disease	WT	Het	Hom
Body Size	Body Size ECA11	65,31%	32,65%	2,04%
Body Size	Body Size ECA3	95,92%	4,08%	0,00%
Body Size	Body Size ECA6	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Body Size ECA9	4,08%	32,65%	63,27%
Body Size	Dwarfism ACAN 42del	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism ACAN CG	100,00%	0,00%	0,00%

Body Size	Dwarfism ACAN CT	85,71%	14,29%	0,00%
Body Size	Dwarfism ACAN delT	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Dwarfism B4GALT7	0,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 1	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 2	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 3	100,00%	0,00%	0,00%
Body Size	Pony Size 4	0,00%	0,00%	0,00%
Coat	Brindle BR1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Brindle Incongenita Pigmenti	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Champagne	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Coat ancestral allele [DUN]	0,00%	2,04%	0,00%
Coat	Coat modern allele [Non-Dun 1]	0,00%	0,00%	0,00%
Coat	Coat modern allele [Non-Dun 2]	0,00%	2,04%	57,14%
Coat	Cream Dilution	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Curly hair variant 1 GA	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Curly hair variant 2 CT	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W10	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W11	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W12	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W13	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W14	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W15	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W16	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W17	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W18	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W19	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W2	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W20	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W21 [White Spotting]	67,35%	28,57%	4,08%
Coat	Dominant White allele W22 [White Spotting]	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W23 [White Spotting]	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W3	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W4	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W5	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W6	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W7	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W8	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Dominant White allele W9	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Extension modifier	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Extension RedBlack factor [Locus E]	48,98%	40,82%	10,20%
Coat	Frame Overo Lethal White	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Incongenita pigmenti IKBKG	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Macchiato	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Night blindness Leopard Cmplx TRPM1	14,29%	22,45%	8,16%
Coat	Ocular Defects Silver PMEL17	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	PATN1	65,31%	26,53%	8,16%
Coat	Pearl	100,00%	0,00%	0,00%

Coat	Recessive Black agouti [Locus A]	20,41%	22,45%	57,14%
Coat	Sabino SB1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW1	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW2	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW3	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Splashed White SW4	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Tobiano inv 1551 1551	100,00%	0,00%	0,00%
Coat	Tobiano inv 851 851	95,92%	4,08%	0,00%
Defect	AIS AR 1654del [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR AG [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR CT [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR delT [Androgen Insensitivity Syndrome]	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	AIS AR GC [Androgen Insensitivity Syndrome]	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Cerebellar Abiotrophy TOE1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Congenital Hepatic Fibrosis	89,80%	10,20%	0,00%
Defect	Epidermolysis Bullosa Junctionalis	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Epidermolysis LAMA3	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Foal Immunodeficiency Syndrome	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Gilbert-Meulengracht Syndrome	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	HERDA PPIB	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	Hoof wall separation SERPINB11	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Hydrocephalus B3GALNT2	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	HYPP SCN4A	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Lavendar Foal MYO5A	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Malignant Hyperthermia RYR1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Mushroom RT ref CT ilmn	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	Myotonia CLCN1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Naked foal syndrome ST14	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	OAAM HOXD3 [Occipitoatlantoaxial Malformation]	0,00%	0,00%	0,00%
Defect	Ocular SCC DDB2 (Ocular squamous cell carcinoma)	63,27%	34,69%	2,04%
Defect	PSSM Rhabdomyolysis GYS1	79,59%	20,41%	0,00%
Defect	Risk Factor IAS SNP1	51,02%	42,86%	6,12%
Defect	Risk Factor IAS SNP2	32,65%	40,82%	26,53%
Defect	Risk Factor Immune Mediated Myositis MYH1	95,92%	4,08%	0,00%
Defect	SCID PRKDC	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Thrombasthenia ITGA2B GC	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	WFFS PLOD1	100,00%	0,00%	0,00%
Defect	Multiple Congenital Ocular Anomalies	100,00%	0,00%	0,00%



# ANALISI DEI MARCATORI GENETICI UNIPARENTALI DELLE RAZZE EQUINE HAFLINGER E NORICO

## Introduzione

Nei mammiferi esistono due unici sistemi genetici non ricombinanti: il DNA mitocondriale (mtDNA), genoma extranucleare trasmesso solo per via materna, e la regione maschio-specifica del cromosoma Y (MSY). I marcatori uniparentali sono sistemi genetici ereditati senza andare incontro a fenomeni di ricombinazione, per questo motivo le variazioni nella sequenza mitocondriale e del cromosoma Y derivano soltanto dall'accumulo sequenziale di nuove mutazioni lungo linee di discendenza esclusivamente femminili (per l'mtDNA) o maschili (per l'MSY).

Nel tempo questo processo di differenziamento molecolare ha dato origine ad unità monofiletiche, chiamate cladi, o aplogruppi (HG), cioè gruppi di mtDNA o MSY che condividono una simile combinazione di mutazioni (aplotipo, HT) derivata per discesa da un antenato comune femminile o maschile, rispettivamente. Mappando queste linee genetiche nel tempo e nello spazio (approccio "filogeografico") è possibile ricostruire la storia demografica delle diverse popolazioni, definendone origine, espansione e modelli di dispersione. Nel caso degli animali domestici è possibile identificare sia le aree e le modalità di domesticazione, che i processi di formazione e diffusione delle attuali razze. Nell'ultimo decennio è stata definita la filogenesi mitocondriale del cavallo che ha permesso di individuare i maggiori aplogruppi che ebbero un ruolo nel processo di domesticazione (Achilli et al. 2012). In particolare, alcuni studi si sono concentrati sull'analisi della variabilità del DNA mitocondriale e del cromosoma Y (ChrY) di razze locali Italiane (Cardinali et al. 2016; Giontella et al. 2020; Lancioni et al. 2020), evidenziando importanti peculiarità che sembrano non aver subito l'influenza delle razze utilizzate per il miglioramento genetico nel corso della storia.

Il DNA mitocondriale equino è lungo 16,660 bp (paia di basi), di cui il 68% è codificante per proteine; la regione MSY equina invece è di circa 15Mb (Fig. 1).

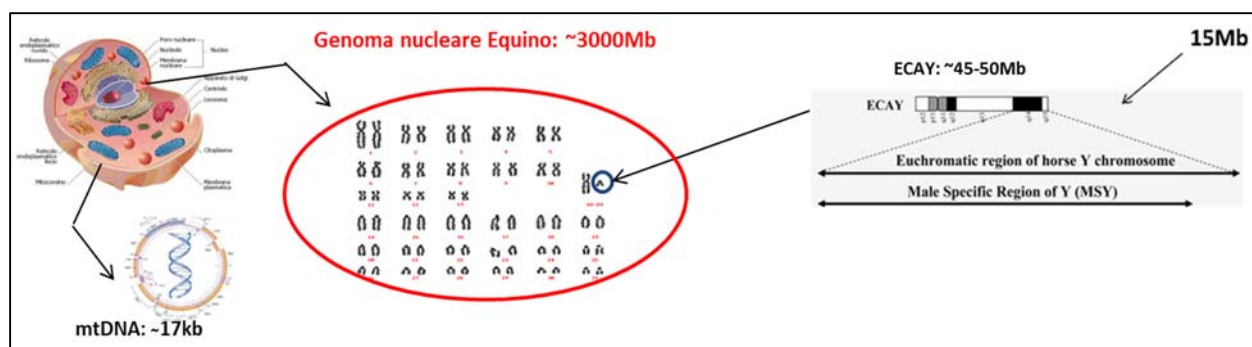


Figura 1. Rappresentazione schematica del genoma nucleare e mitocondriale del cavallo.

## Materiali e metodi

Il DNA di 42 cavalli Haflinger e di 65 Norici è stato raccolto ed estratto presso il Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia (Centro di Ricerca sul Cavallo Sportivo). Le analisi del DNA mitocondriale sono state svolte presso il laboratorio di Genetica di Popolazione ed Evoluzione Molecolare (Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie dell'Università di Perugia) di cui fanno parte la Prof. Hovirag Lancioni (responsabile dell'unità di ricerca) e la Dott.ssa Irene Cardinali.

Lo studio ha previsto le seguenti fasi:

1. Estrazione del DNA da sangue.
2. Amplificazione PCR della regione di controllo del DNA mitocondriale (D-loop), che si estende dalla posizione nucleotidica 15469 alla 16660 e di 3 loci del ChrY.

3. Sequenziamento Sanger di circa 600bp del D-loop e di circa 1000bp della regione MSY.
4. Annotazione delle mutazioni rispetto ad una sequenza di riferimento e classificazione dei vari aplotipi in aplogruppi sulla base delle mutazioni condivise.

## Risultati dell'analisi del DNA mitocondriale

### *Haflinger*

Come si evince dalla tabella 1, tra i 42 campioni Haflinger sono stati individuati 23 aplotipi differenti (HTHaf01-HTHaf23). I campioni sono poi stati raggruppati in aplogruppi e, facendo riferimento alla nomenclatura pubblicata da Achilli et al. 2012, è stato possibile classificare i 42 Haflinger in 10 aplogruppi (A, B, C, G, I, L, N, O, Q, R) (Tab. 1).

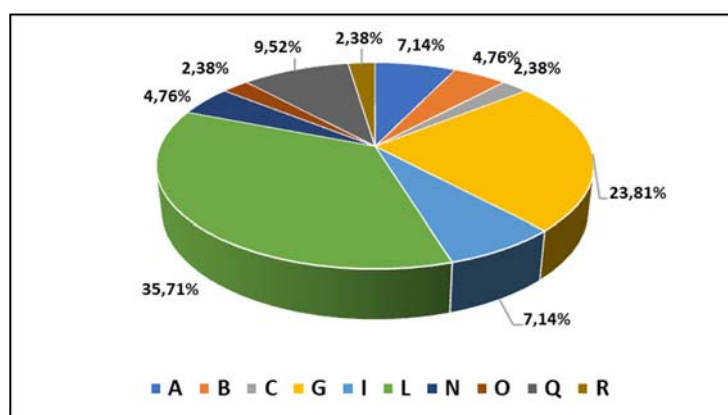
**Tabella 1.** Classificazione in aplotipi e aplogruppi mitocondriali dei 42 cavalli Haflinger.

	<b>Campione</b>	<b>Sesso</b>	<b>Codice Aplotipo</b>	<b>Aplogruppo</b>
<b>1</b>	H1	F	HTHaf01	I
<b>2</b>	H2	F	HTHaf02	I
<b>3</b>	H3	F	HTHaf03	I
<b>4</b>	H4	F	HTHaf04	L
<b>5</b>	H5	F	HTHaf05	G
<b>6</b>	H6	F	HTHaf06	L
<b>7</b>	H7	F	HTHaf07	G
<b>8</b>	H8	F	HTHaf08	Q
<b>9</b>	H9	F	HTHaf06	L
<b>10</b>	H10	F	HTHaf09	B
<b>11</b>	H11	F	HTHaf08	Q
<b>12</b>	H12	F	HTHaf10	G
<b>13</b>	H13	F	HTHaf11	L
<b>14</b>	H14	F	HTHaf06	L
<b>15</b>	H15	F	HTHaf06	L
<b>16</b>	H16	F	HTHaf11	L
<b>17</b>	H17	F	HTHaf12	N
<b>18</b>	H18	F	HTHaf13	A
<b>19</b>	H19	F	HTHaf06	L
<b>20</b>	H20	F	HTHaf14	L
<b>21</b>	H21	F	HTHaf08	Q
<b>22</b>	H22	F	HTHaf08	Q
<b>23</b>	H23	F	HTHaf15	G
<b>24</b>	H25	F	HTHaf05	G
<b>25</b>	H26	F	HTHaf13	A
<b>26</b>	H27	F	HTHaf06	L
<b>27</b>	H28	F	HTHaf16	L
<b>28</b>	H29	F	HTHaf16	L
<b>29</b>	H31	F	HTHaf17	L
<b>30</b>	H32	F	HTHaf07	G
<b>31</b>	H33	F	HTHaf10	G
<b>32</b>	H34	F	HTHaf06	L
<b>33</b>	H35	F	HTHaf18	R

34	H36	F	HTHaf19	C
35	H37	F	HTHaf20	G
36	H38	F	HTHaf15	G
37	H39	F	HTHaf21	O
38	H40	F	HTHaf05	G
39	H41	F	HTHaf22	N
40	H42	F	HTHaf09	B
41	H43	F	HTHaf23	A
42	H44	F	HTHaf17	L

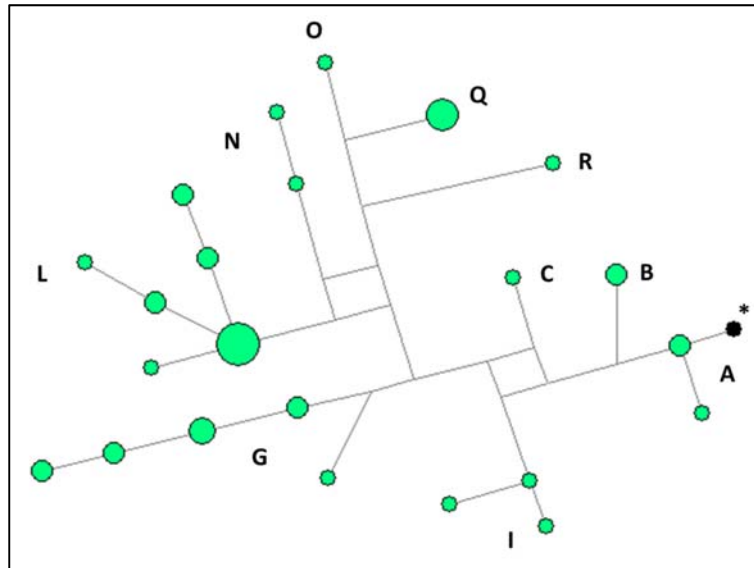
Il confronto delle sequenze ottenute in questo lavoro con quelle precedentemente pubblicate per le razze Italiane ha portato all'identificazione di 10 aplotipi unici (HTHaf03, HTHaf05, HTHaf08, HTHaf12, HTHaf14, HTHaf15, HTHaf16, HTHaf18, HTHaf20, HTHaf23), mai riscontrati nelle altre razze locali, e di 2 aplotipi condivisi solo con il Purosangue Arabo (HTHaf01) e con il Norico (HTHaf19).

Tra i 42 Haflinger su cui è stata condotta l'analisi dell'mtDNA, gli aplogruppi più rappresentati risultano essere L (35,71%) e G (23,81%) (Fig. 2).



**Figura 2.** Frequenze degli aplogruppi mitocondriali in 42 cavalli Haflinger.

La network ottenuta dall'analisi degli aplotipi mostra le relazioni filogenetiche esistenti tra gli mtDNA dei 65 campioni (Fig. 3). I cerchietti colorati in verde rappresentano gli aplotipi corrispondenti ai campioni analizzati, la cui dimensione aumenta con il numero dei campioni che presentano lo stesso aplotipo. I nomi degli aplogruppi sono riportati in nero vicino al ramo corrispondente. L'asterisco indica la sequenza di riferimento (cerchio nero) utilizzata per l'annotazione degli aplotipi.



**Figura 3.** Analisi delle relazioni filogenetiche (Network) tra i 42 cavalli Haflinger.

### *Norico*

L'analisi della regione di controllo del DNA mitocondriale dei 65 campioni Norici ha permesso di individuare ben 36 aplotipi differenti (HTNor01-HTNor36) e di assegnare ad ogni campione il rispettivo aplogruppo mitocondriale. I 65 Norici sono stati quindi classificati in 11 aplogruppi (A, B, C, E, G, I, L, M, N, O'P, Q) (Tab. 2).

**Tabella 2.** Classificazione in aplotipi e aplogruppi mitocondriali dei 65 cavalli Norici.

	<b>Campione</b>	<b>Sesso</b>	<b>Codice Aplotipo</b>	<b>Aplogruppo</b>
<b>1</b>	NK01	F	HTNor01	L
<b>2</b>	NK02	F	HTNor02	I
<b>3</b>	NK03	F	HTNor03	L
<b>4</b>	NK04	F	HTNor04	A
<b>5</b>	NK05	M	HTNor04	A
<b>6</b>	NK06	F	HTNor05	G
<b>7</b>	NK07	F	HTNor06	L
<b>8</b>	NK08	F	HTNor07	M
<b>9</b>	NK09	F	HTNor08	B
<b>10</b>	NK10	F	HTNor09	M
<b>11</b>	NK11	F	HTNor10	L
<b>12</b>	NK12	F	HTNor11	C
<b>13</b>	NK13	F	HTNor12	I
<b>14</b>	NK14	M	HTNor13	G
<b>15</b>	NK15	M	HTNor06	L
<b>16</b>	NK16	M	HTNor14	O'P
<b>17</b>	NK17	F	HTNor15	L
<b>18</b>	NK18	F	HTNor15	L
<b>19</b>	NK19	F	HTNor16	N
<b>20</b>	NK20	F	HTNor17	L
<b>21</b>	NK21	M	HTNor17	L
<b>22</b>	NK22	F	HTNor18	B

23	NK23	F	HTNor02	I
24	NK24	F	HTNor19	M
25	NK25	F	HTNor20	E
26	NK26	F	HTNor03	L
27	NK27	F	HTNor21	B
28	NK28	F	HTNor22	Q
29	NK29	F	HTNor23	I
30	NK30	F	HTNor19	M
31	NK31	F	HTNor19	M
32	NK32	F	HTNor17	L
33	NK33	F	HTNor03	L
34	NK34	F	HTNor13	G
35	NK35	F	HTNor24	I
36	NK36	F	HTNor10	L
37	NK37	F	HTNor25	L
38	NK38	F	HTNor26	M
39	NK39	F	HTNor27	A
40	NK40	F	HTNor26	M
41	NK41	F	HTNor28	G
42	NK42	F	HTNor22	Q
43	NK43	F	HTNor29	N
44	NK44	F	HTNor19	M
45	NK45	F	HTNor10	L
46	NK46	F	HTNor10	L
47	NK47	F	HTNor06	L
48	NK48	M	HTNor30	N
49	NK49	M	HTNor31	G
50	NK50	F	HTNor25	L
51	NK51	F	HTNor11	C
52	NK52	F	HTNor11	C
53	NK53	F	HTNor17	L
54	NK54	F	HTNor32	Q
55	NK55	F	HTNor25	L
56	NK56	F	HTNor03	L
57	NK57	F	HTNor29	N
58	NK58	F	HTNor33	A
59	NK59	F	HTNor19	M
60	NK60	F	HTNor34	O'P
61	NK61	F	HTNor03	L
62	NK70	F	HTNor35	B
63	NK71	F	HTNor36	I
64	NK72	F	HTNor35	B
65	NK73	F	HTNor11	C

Il confronto delle sequenze ottenute in questo lavoro con quelle precedentemente pubblicate per le razze Italiane ha portato all'identificazione di 7 aplotipi unici (HTNor22, HTNor23, HTNor26, HTNor27, HTNor31, HTNor32, HTNor34), mai riscontrati nelle altre razze locali, e di

2 aplotipi condivisi solo con Haflinger (HTNor11) e con il Cavallo da Tiro Pesante Rapido (HTNor36).

Tra i 65 Norici su cui è stata condotta l'analisi dell'mtDNA, gli aplogruppi più rappresentati risultano essere L (33,85%) e M (13,85%) (Fig. 4).

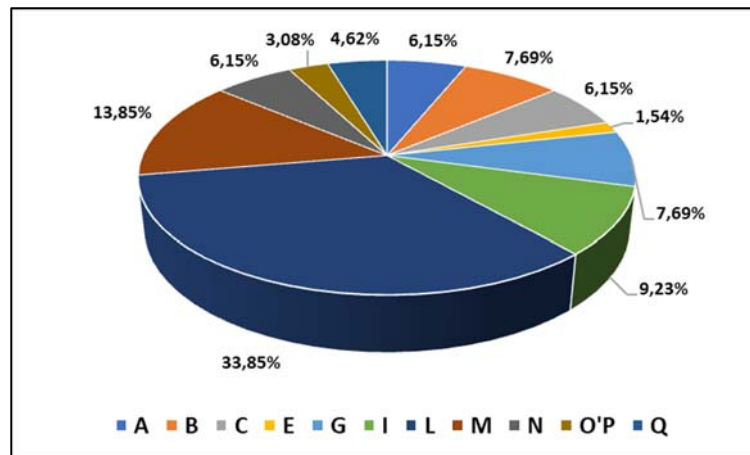


Figura 4. Frequenze degli aplogruppi mitocondriali in 65 cavalli Norici.

La network ottenuta dall'analisi degli aplotipi mostra le relazioni filogenetiche esistenti tra gli mtDNA dei 65 campioni (Fig. 5). I cerchietti colorati in giallo rappresentano gli aplotipi corrispondenti ai campioni analizzati, la cui dimensione aumenta con il numero dei campioni che presentano lo stesso aplotipo. I nomi degli aplogruppi sono riportati in nero vicino al ramo corrispondente. L'asterisco indica la sequenza di riferimento utilizzata per l'annotazione degli aplotipi.

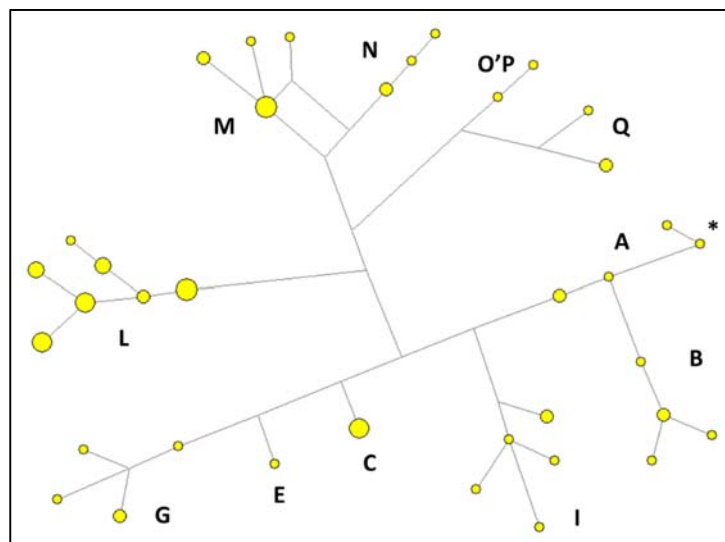


Figura 5. Analisi delle relazioni filogenetiche (Network) tra i 65 cavalli Norici.

### Risultati dell'analisi del Cromosoma Y

Per l'analisi della regione maschio-specifica del cromosoma Y, abbiamo fatto riferimento ai loci individuati da Wallner et al. nel 2013. Questo gruppo di ricerca ha infatti osservato una forte influenza genetica degli stalloni provenienti dal Vicino Oriente sui cavalli Europei ed ha descritto sei aplotipi MSY (HT1, HT2, HT3, HT4, HT5, HT6) per i cavalli moderni. Tra questi, tre aplotipi risultano particolarmente comuni: HT1, che rappresenta l'aplotipo ancestrale; HT2, caratteristico dell'ondata Orientale; HT3, tipico del Purosangue Inglese (Wallner et al. 2013; Giontella et al. 2020; Cardinali et al. 2022). I 3 restanti aplotipi (HT4, HT5, HT6) derivano dall'aplotipo HT1 e sono stati riscontrati solo nelle razze nord-europee. In particolare, l'elevata frequenza degli aplotipi HT1 e HT2 sembra essere dovuta all'importazione di cavalli arabi

portatori di questi aplotipi negli allevamenti dell'Europa centrale, mentre la frequenza di HT3 nei cavalli moderni è attribuibile all'uso intensivo del Purosangue Inglese nel miglioramento delle altre razze equine.

Tra i campioni Haflinger analizzati non c'erano esemplari femmina, quindi non è stata condotta l'analisi sul Cromosoma Y. Ad ogni modo, alcune pubblicazioni riportano lo stesso aplotipo HT1 per i cavalli Haflinger provenienti dall'Europa Centrale (Wallner et al. 2013; Kreuzmann et al. 2014). L'analisi di 3 loci dell'MSY dei 7 stalloni Norici, invece, ci ha permesso di osservare che essi presentano tutti lo stesso aplotipo HT1.

Un recente lavoro riguardante l'analisi della regione maschio-specifica del cromosoma Y (MSY) di molte razze equine moderne ha affermato che i cavalli appartenenti alle razze Haflinger e Norico, tutti campionati in Italia, appartengono ad un aplogruppo della linea maschile rappresentato da stalloni Arabi e da razze di cavalli da tiro (Felkel et al. 2018).

### **Conclusioni**

L'analisi del DNA mitocondriale ha evidenziato un totale di 17 aplotipi unici (10 tra i cavalli Haflinger e 7 nei Norici) mai riscontrati nelle altre razze locali Italiane precedentemente analizzate. Tutti i campioni sono poi stati classificati in aplogruppi, mostrando una buona variabilità e delle caratteristiche peculiari nelle due razze. I dati ottenuti da una piccola porzione (D-loop) rappresentano uno step preliminare che permette di effettuare una prima analisi della variabilità genetica mitocondriale e quindi la selezione dei campioni su cui fare l'analisi dell'intero mitogenoma, al fine di conoscere la sequenza completa e, in particolare, caratterizzare gli aplotipi unici al massimo livello di risoluzione per l'mtDNA.

L'analisi dei 3 loci del cromosoma Y invece ha delineato una mancanza di variabilità genetica tra gli stalloni Norici analizzati. Al fine di confermare questo dato e poter fare un'analisi comparativa tra i dati riguardanti le linee materne e quelli relativi alla controparte maschile, risulta comunque necessario estendere il campionamento anche agli stalloni Haflinger ed ampliare il numero di loci MSY da analizzare.