

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

SEDE AMMINISTRATIVA: UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente - DAFNAE

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE ANIMALI

INDIRIZZO: GENETICA, BIODIVERSITÀ, BIOSTATISTICA E BIOTECNOLOGIE

CICLO XXIV

Conservazione e valorizzazione delle risorse genetiche animali autoctone

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Martino Cassandro

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Roberto Mantovani

Supervisore : Ch.mo Prof. Martino Cassandro

Dottorando : Nicola Tormen

Ai miei genitori

FLORA e GIOVANNI

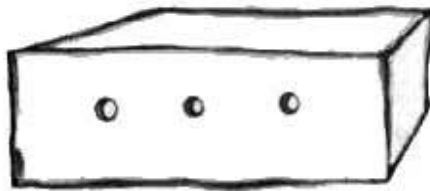
*All'altra metà del mio cuore, senza la quale,
ormai, non potrebbe più battere*

CHIARA

Buttai giù un quarto disegno.

E tirai fuori questa spiegazione:

"Questa e' soltanto la sua cassetta. La pecora che volevi sta dentro".



Fui molto sorpreso di vedere il viso del mio piccolo giudice illuminarsi.

"Questo e' proprio quello che volevo."

Antoine de Saint-Exupéry - Il Piccolo Principe

SOMMARIO

RIASSUNTO	1
SUMMARY	7
PRIMO CONTRIBUTO	13
<i>INFERENCE ON POPULATION STRUCTURE OF VENETO LOCAL SHEEP BREEDS USING MICROSATELLITES</i>	
INTRODUCTION	14
MATERIALS AND METHODS	15
Breed Description	15
Animal Sampling	16
Amplification and Genotyping of Microsatellite Markers	17
Statistical Analysis	17
RESULTS	19
Genetic Variability at Microsatellite Loci	19
Breed Variability and Differentiation	19
Population Structure	21
DISCUSSION	21
TABLES AND FIGURES	25
SECONDO CONTRIBUTO	31
<i>SIMULATIONS FOR SCRAPIE ERADICATION IN TWO LOCAL ITALIAN SHEEP BREEDS</i>	
INTRODUCTION	32
MATERIALS AND METHODS	33
RESULTS AND DISCUSSION	35
CONCLUSION	36
TABLES AND FIGURES	37
TERZO CONTRIBUTO	43
<i>EVALUATION OF EFFECTS IN A POSSIBLE SELECTION FOR THE ERADICATION OF SCRAPIE IN LOCAL SHEEP BREEDS</i>	
INTRODUCTION	44
MATERIALS AND METHODS	45

Animal Sampling	45
Statistical Analysis	45
Results and Discussion	47
PrP gene genotyping	47
Genetic variability in the analyzed breeds	47
CONCLUSIONS	48
TABLES AND FIGURES	49
QUARTO CONTRIBUTO	53
<i>THE TRICHOLOGICAL ANALYSIS IN THE STUDY OF LOCAL SHEEP BREEDS</i>	
INTRODUZIONE	54
Il pelo	54
Analisi micro-morfometrica	56
MATERIALI E METODI	57
Prelievo e preparazione del campione	57
Analisi microscopica e acquisizione dei dati morfometrici digitali	58
Trattamento dei dati e analisi statistica	60
RISULTATI E DISCUSSIONE	61
CONCLUSIONI	64
TABELLE E FIGURE	65
CONCLUSIONI GENERALI	75
LETTERATURA CITATA	77
LISTA DELLE PUBBLICAZIONI	87
ALLEGATO I	
SPERIMENTAZIONI 2012 PER LA AGRICOLTURA BIOLOGICA	
AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA VILLIAGO - AZIENDA APERTA - PROTOCOLLI APERTI	
ALLEGATO II	
LA CONSERVAZIONE DELLE RAZZE OVINE VENETE	

Dove non espressamente citato, le fotografie sono da intendersi di proprietà dell'autore.

RIASSUNTO

La conservazione e la valorizzazione delle risorse genetiche animali autoctone è un campo di studio teorico ed applicativo che sta assumendo sempre maggior interesse ed importanza, soprattutto in questo nuovo millennio in cui i cambiamenti globali sono sempre più rapidi e l'esigenza di un'agricoltura sostenibile e spesso localizzata si fa sempre maggiormente presente (FAO, 2012, *The State of Food and Agriculture*, <http://www.fao.org/catalog/inter-e.htm>).

Lo studio riportato in questa tesi di dottorato, finanziato anche dalla Regione Veneto con una borsa di studio a tema vincolato, è stato focalizzato, attraverso la presentazione di quattro contributi, sullo studio delle risorse genetiche ovine autoctone del Veneto, con particolare riferimento al centro di conservazione presso l'Azienda Sperimentale per la Montagna "Villiago" (Veneto Agricoltura - Agenzia Regionale per i settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare) di Sedico (BL) (Allegato I).

Il primo contributo riguarda la caratterizzazione delle razze ovine venete a limitata diffusione iscritte a R.A. (Alpagota, Brogna, Foza e Lamon), attraverso un'indagine genetica con l'uso di un panel a 17 marcatori microsatelliti (FASS, 1999; ISAG/FAO, 2004) e in relazione ad una razza italiana iscritta a L.G. (Appenninica) usata come *outgroup*. Per cercare di valutare l'influenza delle strutture di sottopopolazione (se presenti), i dati totali sono stati considerati nel piano sperimentale in due modi:

- ✓ come un'unica popolazione campionaria;
- ✓ come due popolazioni campionarie, suddivise in un allevamento principale istituzionale definito "*main flock*" ("Villiago") e che racchiude tutte e 4 le razze venete, e in allevamenti secondari definiti "*secondary flocks*" (essenzialmente allevatori privati).

In generale, si è rilevato che le razze venete mostrano una considerevole variabilità genetica, in termini di numero di alleli e di eterozigosità, rispetto alla razza di riferimento, che si è rivelata la meno variabile (0.663). Tuttavia, un significativo deficit di eterozigoti è stato osservato in ogni razza a causa di livelli piuttosto elevati di consanguineità o per la presenza di sottostrutture nella popolazione, probabilmente dovute a una maggiore variabilità genetica nelle

popolazioni fondatori rispetto a quest'ultime. Considerando poi la popolazione campionaria suddivisa in "*main flock*" e "*secondary flocks*", si è assistito ad una differenziazione genetica tra greggi principali e secondarie all'interno di ogni razza, in termini di numero totale di alleli, ricchezza allelica e riduzione di diversità genetica (Caballero & Toro, 2002). In generale, dai campioni totali e non considerando la suddivisione in "*main flock*" e "*secondary flocks*", il contributo della diversità genetica è compresa tra -0,954%, rimuovendo dal set di dati la razza Appenninica, a +1,357%, rimuovendo Alpagota. Considerando la suddivisione tra "*main flock*" e "*secondary flocks*", i risultati ottenuti dal gruppo principale sono diversi da quelli dei gruppi secondari: rimuovendo i soggetti del "*secondary flocks*" il valore massimo si è raggiunto togliendo le razze Alpagota (-7,415) e Brogna (-6,390), mentre non considerando le razze Foza e Lamon in entrambi i gruppi principale e secondario, il valore ottenuto risulta sempre negativo (Foza: -0,209, -6,237, Lamon: 0,949, -2,795, per "*main flock*" e "*secondary flocks*", rispettivamente).

In sintesi, i risultati di questo studio mostrano quindi l'importanza di confrontare la diversità genetica tra le greggi principali e secondari per salvaguardare le razze ovine autoctone, soprattutto nell'ambito delle linee guide che le istituzioni dovrebbero fornire nei programmi di conservazione a tutela di allevamenti istituzionali e privati, prevedendo azioni distinte e mirate.

I risultati ottenuti sono serviti, inoltre, per la realizzazione di una scheda tecnica informativo-divulgativa per gli allevatori (Allegato II).

Nel secondo contributo si propone di studiare delle simulazioni generazionali attraverso l'uso del software *Hybridlab*, al fine di valutare una prima ipotesi sui possibili effetti di una selezione di genotipi non suscettibili allo sviluppo della malattia neurodegenerativa scrapie nelle razze ovine autoctone; lo studio riguarda in particolar modo l'approccio alle simulazioni generazionali in gruppi di ovini di cui non si possiedono i dati di *pedigree*. In questo caso la variabilità genetica di due gruppi di soggetti appartenenti a due razze ovine autoctone del Veneto, Alpagota e Brogna (118 soggetti totali, di cui 23 ♂ e 42 ♀ per Brogna, 27 ♂ e 26 ♀ per Alpagota), è stata studiata attraverso l'analisi genetica con l'applicazione di 17 marcatori microsatelliti, come nel protocollo seguito nello

studio del primo contributo di questo lavoro. I dati molecolari ottenuti sono stati utilizzati per la simulazione delle generazioni successive delle due razze, secondo uno schema di incroci all'interno della razza e sulla base della scelta dei maschi riproduttori in relazione ai dati genotipici di suscettibilità scrapie. Gli assunti alla base del lavoro, necessari per il piano di accoppiamento, sono stati:

- ✓ le frequenze alleliche degli animali del campione sono rappresentativi delle popolazioni originali;
- ✓ tutti i montoni e le tutte femmine hanno le stesse prestazioni riproduttive;
- ✓ i maschi sono selezionati da un disegno casuale e sono utilizzati solo per un turno di monte;
- ✓ il numero di animali che compone la popolazione campione è fisso.

Per ogni razza quattro nuove generazioni simulate successive sono state realizzate ampliando la popolazione al tempo zero fino a 1000 individui e selezionando oltre 500 soggetti rappresentativi della popolazione reale (per frequenze alleliche e sesso). Su queste popolazioni simulate al tempo zero, ritenute rappresentative della situazione reale di partenza, si è proceduto ad applicare uno schema di selezione con rimonta interna pari a 10% della consistenza reale, *sex ratio* della progenie 50% circa, prolificità media 145%, utilizzo dei maschi per un solo turno di monte e mai nel turno riproduttivo (stagione) successiva alla nascita, ma in quello dopo. La selezione, su base maschile, è stata eseguita utilizzando due diversi approcci: scartando maschi con genotipo scrapie sfavorevole (Classe di rischio V, genotipi VRQ/VRQ, ARQ/VRQ e ARH/VRQ) e senza selezione del genotipo. I soggetti eliminati sono stati scelti in maniera casuale tra quelli idonei alla selezione. Si è riscontrato che il numero totale di alleli rilevati in Alpagota è stato di 158 (media $9.29 \pm SD 2.95$), e in Brogna è stato di 186 (media $10.94 \pm SD 3.05$). Le differenze nel numero medio di alleli, eterozigosità attesa e osservata, e *coancestry* molecolare sono stati rilevati per le popolazioni selezionate e non selezionate di entrambe le razze. I risultati hanno mostrato che, se gli assunti sono rispettati e l'analisi generazionale è corretta con l'uso del software *Hybridlab*, la selezione contro la sensibilità alla scrapie è possibile nelle razze locali a ridotta diffusione studiate, senza compromettere la diversità genetica.

Il terzo contributo è stato realizzato consecutivamente ai primi due e come continuazione degli stessi. Si basa sui dati molecolari dei soggetti animali analizzati nel primo contributo e ha come scopo cercare di rispondere a due domande che un ricercatore si potrebbe porre a seguito dell'analisi teorica di simulazione generazionale delle popolazioni:

- "Cosa succederebbe se ci fosse in realtà la rimozione diretta ed immediata di individui a seguito di un piano selezione dei soggetti a suscettibilità elevata di sviluppare la scrapie, e quindi nella popolazione reale?";
- "È possibile ipotizzare un quadro descrittivo della popolazione attuale al tempo zero?".

Per fare questo, si sono utilizzati i dati reali degli animali caratterizzati nel primo contributo di questa tesi, estrapolando 394 soggetti appartenenti alle 4 razze ovine venete, con le seguenti specifiche: 110 Alpagota, 186 Brogna, 55 Foza e 43 Lamon. Oltre alla caratterizzazione molecolare a 17 marcatori microsatelliti, si sono utilizzate le informazioni derivanti dalla genotipizzazione per verifica dell'aplotipo associato al gene *PrP*, ritenuto associabile al grado di suscettibilità di sviluppo della malattia.

Ho creato così 31 dataset puntuali differenti, in relazione alla rimozione di tutte le combinazioni di aplotipi inquadrati nella tabella di classe di rischio indicata dalla Commissione Europea. La numerosità delle popolazioni è però differente:

- ✓ popolazione integra (394 soggetti);
- ✓ popolazione con rimozione dei soggetti maschi e femmine iscrivibili nella classe di rischio V (332 soggetti);
- ✓ popolazione con soggetti delle classi di rischio V e IV insieme (quindi con rimozione completa dell'allele VRQ dalla popolazione, per un totale di 134 soggetti).

Dall'analisi statistica dei dataset ritenuti utili è emerso che il numero totale di alleli rilevato è pari a 286, con valore minimo di 11 per i loci McM527 e MAF65 e valore massimo di 23 per i loci CSRD247 e INRA063. La frequenza allelica relativa agli alleli rilevati ARR, AHQ, ARK, ARQ, ARH e VRQ è variabile tra le razze, ma in tutte l'allele maggiormente presente è ARQ. Mentre l'eterozigosità osservata, passando dall'analisi dei dati relativi alla popolazione integra a quelli delle altre due

popolazioni senza classe quinta e senza classi quinta e quarta di rischio degli individui, aumenterebbe solo in tutti i casi per Brogna, per Lamon aumenta solo tra le ultime due categorie, mentre per tutte le razze il numero medio di alleli cala drasticamente. Infine, proprio solo la popolazione dei soggetti di razza Lamon presenta una riduzione della perdita in diversità genetica confrontando le tre categorie di dataset.

In generale, quindi, è possibile affermare che se si considera la selezione dei soggetti nelle razze ovine venete, in relazione ai dati campionati e assumendo che questi siano rappresentativi della situazione reale delle popolazioni allevate nella loro totalità, vi sia una possibile generale perdita di biodiversità allevata.

Nel quarto contributo, invece, la conservazione e valorizzazione delle risorse genetiche animali è stata investigata con un approccio indiretto, assumendo che se esistono delle differenze macroscopiche tra i soggetti delle diverse razze e tra le razze, potrebbero esistere anche delle differenze espresse a livello microscopico. Nel caso specifico, si è scelto di utilizzare un metodo di raffronto del vello, con rilievo delle caratteristiche micro-morfometriche strutturali della superficie del pelo, concentrandosi sulle forme cuticolari. Per cercare di ridurre l'errore dell'operatore che dovrebbe essere adeguatamente preparato a riconoscere e classificare le mutevoli forme cuticolari, si è messo a punto un metodo basato sulla misurazione mediante microscopia d'immagine e successiva *image analysis* con software *ImageJ* di sezioni calibrate di pelo, in aree determinate di *Shield* (terzo distale del pelo verso la punta) e di *Shaft* (terzo prossimale del pelo verso il bulbo). Dall'analisi di 90 peli appartenenti a 15 soggetti femmine (6 peli a soggetto) riconducibili in maniera univoca alle razze Alpagota (3), Brogna (3), Foza (3), Lamon (3) e Appenninica (3), abbiamo ottenuto 2 serie di 9023 dati grezzi; in ciascuna sono espressi valori di area e perimetro di tutte le forme cuticolari (parziali o totali) riconducibili a 6 aree campione contigue di 50 μm l'una. Poiché lo scopo è quello di individuare un metodo di rilevamento delle caratteristiche morfometriche e assumendo che esistano delle relazioni metriche tra l'area e il perimetro di qualsiasi forma geometrica anche se non regolare, si è provveduto a trasformare i valori di area e perimetro di ciascuna forma nel suo rapporto "*Area/Perimetro*", ottenendo un valore espresso in μm . Da ciascuna serie di valori è stata quindi

creata una nuova serie di valori indice pari alla media e alla mediana delle singole 6 aree campione di *Shield* e di *Shaft*, portando una contrazione delle serie campionaria della popolazione di dati a 1080. Tali popolazioni campionarie sono state considerate nella loro totalità dei dati, solo considerando i dati relativi alla zona di *Shield* e solo quelli relativi alla zona di *Shaft*, sottoponendole ad analisi parametrica della varianza con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller.

Dall'analisi è emerso che in tutti i casi sono stati sempre rilevati delle differenze tra le aree considerate (*Shield* e *Shaft*), a riprova del fatto che il metodo è in grado di rappresentare adeguatamente le differenze microscopiche evidenti tra le due aree del pelo. Considerando poi solo le serie di dati relative a *Shield* e *Shaft*, è stato possibile rilevare delle differenze tra le razze, con raggruppamenti "Foza-Alpagota", "Lamon" e "Broгна-Appenninica". Riguardo questo, si può dire che le caratteristiche di diametro micrometrico del vello delle razze Broгна e Appenninica siano comparabili, mentre il vello della razza Lamon è notoriamente di dimensioni maggiori in termini di lunghezza e diametro delle fibre. Solo nel caso dell'analisi della serie relativa alle mediane in *Shaft*, con il test *post-hoc* di Duncan-Waller è stato possibile separare tutte e cinque le razze.

In sintesi, tale metodo, se i risultati fossero confermati dall'applicazione delle metodiche su un set di dati di dimensioni maggiori in termini di numerosità dei soggetti campionati, potrebbe rappresentare un possibile metodo economico che integra le analisi genetiche, utile anche nella valorizzazione delle razze mediante caratterizzazione (controllo e autocontrollo) dei prodotti derivati.

SUMMARY

The conservation and enhancement of indigenous animal genetic resources is a field of theoretical study and application that are taking increasing interest and importance, especially in this new millennium in which global changes continue to accelerate and the need for sustainable and often localized agriculture, is becoming more prevalent (FAO, *The State of Food and Agriculture*, 2012, <http://www.fao.org/catalog/inter-e.htm>).

The study of this thesis also financed by Veneto Region with a scholarship, is focused, through the presentation of four contributions, to the study of indigenous sheep genetic resources in Veneto region, with particular reference to the center of conservation at the Experimental Farm for the Mountain "Villiago" (Veneto Agriculture - Regional Agency for Agricultural sectors, Forestry and Food) Sedico (BL) (Annex I).

The first contribution is about the characterization of Veneto sheep breeds with limited diffusion recognized in R.A. (Alpagota, Brogna, Foza and Lamon), through a genetic investigation with the use of a panel of 17 microsatellite markers (FASS, 1999; ISAG / FAO, 2004) and in relation to an Italian breed recognized in L.G. (Appenninica) used as an *outgroup*. To try to evaluate the influence of the structures of subpopulation (if present), total data were considered in the experimental plan in two ways:

- ✓ as a single sample population ;
- ✓ as two sample populations, divided into a main institutional farm called "main flock" ("Villiago"), which contains all 4 breeds of Veneto region, and into secondary farms called "secondary flocks" (essentially private breeders).

In general, it was found that Veneto sheep breeds show a considerable genetic variability, in terms of number of alleles and heterozygosity with respect to the breed of reference, which proved to be the least variable (0.663).

However, a significant deficit of heterozygotes was observed in every breed due to rather high levels of consanguinity or for the presence of substructures in the population, probably due to greater genetic variation in populations founders with respect to the latter.

Considering the sample population divided into "*main flock*" and "*secondary flocks*," there has been a genetic differentiation between primary and secondary flocks within each breed, in terms of total number of alleles, allelic richness and reduction in genetic diversity.

In general from total samples, not considering the division into "*main flock*" and "*secondary flocks*", the contribution of genetic diversity is between -0.954%, removing from the data set the Appenninica, to +1.357%, removing Alpagota.

Considering the division between "*main flock*" and "*secondary flocks*", the results obtained from the main group are different from secondary groups: removing the subjects of "*secondary flocks*" the maximum value has been reached by removing the breeds Alpagota (-7.415) and Brogna (-6.390), while not considering breeds Foza and Lamon in both primary and secondary groups, the value obtained is always negative (Foza: -0.209, -6.237, Lamon: 0.949, -2.795, for "*main flock*" and "*secondary flocks*", respectively).

In summary, the results of this study show the importance to compare the genetic diversity among primary and secondary flocks to safeguard native sheep breeds, especially in the guidelines that the institutions should provide in conservation programs to protect institutional and private farms, by providing separate and targeted actions.

The results obtained are served, also, for the realization of a technical-informative layman for breeders (Annex II).

The second contribution is to study the generational simulations through the use of *Hybridlab* software, in order to evaluate a first hypothesis about the possible effects of a selection of genotypes not susceptible to the development of neurodegenerative disease scrapie in native sheep breeds; the study concerns in particular the approach to generational simulations in groups of sheep that do not have the *pedigree* data.

In this case the genetic variability of two groups of subjects from two native sheep breeds of Veneto region, Alpagota and Brogna (118 subjects in total, of which 23 ♂ and 42 ♀ for Brogna, 27 ♂ and 26 ♀ for Alpagota), was studied by genetic analysis with the application of 17 microsatellite markers, as in the protocol followed in the study of the first contribution of this work.

The molecular data obtained were used for the simulation of subsequent generations of the two breeds, according to a scheme of intersections within the breed and on the basis of the choice of breeding males in relation to the genotypic data of scrapie susceptibility. The assumptions behind the work required for the coupling plane, were:

- ✓ the allele frequencies of the sample of animals are representative of the original populations;
- ✓ all rams and all females have the same reproductive performances;
- ✓ males are selected by a random drawing and are used only for one round of mating;
- ✓ the number of animals who makes up the sample population is fixed.

For each breed were carried out four new simulated successive generations, expanding the population at time zero up to 1000 individuals and selecting more than 500 subjects representative of the real population (for allele frequencies and sex).

On these simulated populations at time zero, considered representative of the real situation of departure, we proceeded to apply a selection scheme with internal selection of 10% of the internal real consistency, sex *ratio* of offspring about 50%, average fertility 145%, use of males for only one round of mating and never in reproductive round (season) after birth, but in the next. The selection, on the basis male, was performed using two different approaches: discarding males with scrapie unfavorable genotype (Hazard Class V genotypes VRQ / VRQ, ARQ / VRQ and ARH / VRQ) and without selection of the genotype. The subjects deleted were chosen randomly among those eligible for selection. It was found that the total number of alleles detected in Alpagota was of 158 (average $9.29 \pm \text{SD } 2.95$), and in Brogna was 186 (mean $10.94 \pm \text{SD } 3.05$).

The differences in the mean number of alleles, expected and observed heterozygosity, and molecular *coancestry* are determined by the selected and non-selected populations of both breeds. The results showed that if the assumptions are met and the generational analysis is corrected by the use of *Hybridlab* software, selection against susceptibility to scrapie is possible in studied local breeds with reduced diffusion, without compromising the genetic diversity.

The third contribution was made consecutive to the first two, and as a continuation of the same. It is based on molecular data of those animals tested in the first contribution and aims to try to answer two questions that a researcher might ask as a result of the theoretical analysis of generational simulation of populations:

- "What would happen if there was in fact the direct and immediate removal of individuals as the result of a selection plan of subjects to high susceptibility to develop scrapie, and then in real populations?"

- "Is possible to imagine a description of the current population at time zero?"

To do this, we used data from real animals characterized in the first contribution of this thesis, extrapolating 394 individuals belonging to four Veneto sheep breeds, with the following specifications: 110 Alpagota, 186 Brogna, 55 and 43 Foza Lamon. In addition to the molecular characterization of 17 microsatellite markers, we have used the information from genotyping for verification of haplotype associated with the *PrP* gene, believed to be associated with the degree of susceptibility to developing the disease.

So, I created 31 different punctual datasets, in relation to the removal of all combinations of haplotypes classified in the table of risk class indicated by the European Commission.

The relative abundance of populations is different:

- ✓ whole population (394 subjects);
- ✓ population with removal of the male and female of risk class V (332 subjects);
- ✓ population with subjects of risk class IV and V together (ie with complete removal of the VRQ allele from the population, for a total of 134 subjects).

The statistical analysis of the datasets considered useful showed that the total number of alleles detected is equal to 286, with a minimum value of 11 for the loci McM527 and MAF65 and maximum value of 23 for the loci CSRD247 and INRA063. The allelic frequency relative to the alleles detected ARR, AHQ, ARK, ARQ, ARH and VRQ varies between breeds, but in all the ARQ allele is more prevalent. While the observed heterozygosity, passing from the analysis of data relating whole

population to those of the other two populations without risk class V and risk class V and IV of individuals, would increase only in all cases for Brogna, for Lamon increases only between the last two categories, while for all breeds the average number of alleles drastically decreases. Finally, only the population of subjects of breed Lamon has reduced the loss in genetic diversity by comparing the three categories of dataset.

In general, then, we can say that if we consider the selection of subjects in Veneto sheep breeds, in relation to the sampled data and assuming that these are representative of the real situation of entirely breeding populations, there is a possible general loss of biodiversity raised.

In the fourth contribution, however, the conservation and development of animal genetic resources was investigated by an indirect approach, assuming that if there are glaring differences between individuals of different breeds and between breeds, there may also be differences expressed at the microscopic level. In this specific case it was decided to use a method of comparison of the wool, emphasizing the micro-morphometric structural features of hair surface, focusing on forms of cuticle. To try to reduce the error of the operator that should be adequately trained to recognize and classify the changing cuticular shapes, it has developed a method based on the measurement by microscopy image and subsequent *image analysis* with software *ImageJ* of calibrated sections of hair in certain areas of *Shield* (distal third of the hair towards the tip) and *Shaft* (proximal third of the hair towards the bulb). From the analysis of 90 hairs belonging to 15 female subjects (6 hairs to subject) attributable uniquely to the breeds Alpagota (3), Brogna (3), Foza (3), Lamon (3) and Appenninica (3), we have obtained 2 sets of 9023 raw data, in which are expressed values of area and perimeter of all cuticular forms (partial or total) referable to 6 sample areas contiguous 50 μm each. Since the objective is to identify a method of detection of the morphometric features and assuming that there are metric relations between the area and the perimeter of any geometric shape although not regular, it was decided to transform the values of area and perimeter of each form in its report "AREA/PERIMETER", obtaining a value expressed in microns. From each set of values it was then created a new set of index values equal to the average and median

of the individual sample *Shield* and 6 areas of *Shaft*, bringing a contraction of the series of data sample of the population to 1080.

These sample populations are considered in their entirety of the data, only considering data from the *Shield* area and only those relevant to the area of *Shaft*, subjected to parametric analysis of variance with procedure "Proc GLM SAS® version 9.2" and *post-hoc* test Duncan-Waller.

The analysis showed that in all cases were always recognized the differences between the considered areas (*Shield* and *Shaft*), reflecting the fact that the method is able to adequately represent the microscopic obvious differences between the two areas of the hair. Considering then only the series of data relating to *Shield* and *Shaft*, it was possible to detect differences between breeds, with groupings "Foza-Alpagota", "Lamon" and "Broгна-Appenninica". About this, we can say that the features of micrometer diameter of wool in Broгна and Appenninica breeds are comparable, while the wool of Lamon breed is known to be larger in terms of length and diameter of the fibers. Only in the case of the analysis of the series on the medians in *Shaft*, with *post-hoc* test of Duncan-Waller it was possible to separate all five breeds.

In summary, this method, if the results were confirmed by the application of the methods on a larger dataset in terms of number of individuals sampled, could be one possible economic method that integrates genetic analysis, also useful in the exploitation of the breeds by characterization (control and self-control) of derivatives.

INFERENCE ON POPULATION STRUCTURE OF VENETO LOCAL SHEEP BREEDS USING MICROSATELLITES

Parte dei risultati esposti sono stati presentati nei seguenti lavori:

Bondesan ,V., Cassandro, M., Tormen, N., Stelletta, C., (2011). **La conservazione delle razze ovine venete**. Veneto Agricoltura (PSR 2007-13 misura 214/H – rete regionale delle Biodiversità Agraria, Progetto CONSAVIO: Conservazione genetica delle razze avicole e ovine autoctone), pp. 28

Tormen, N., Zanetti, E., Bondesan, V., Cassandro, M., (2011) **Strategies for assessing conservation priorities in sheep breeds**. *Ital. J. Anim. Sci.*, vol.10 : supp. 1, p. 67

INTRODUCTION

Sheep (*Ovis aries*) were among the first animals to be domesticated by human as well Krebs and Krebs (2003) reported a domestication date between nine and eleven thousand years ago in Mesopotamia. Today, *Ovis aries* is an entirely domesticated animal that is largely dependent on man for its productivity, health and survival. Feral sheep do exist, but exclusively in areas devoid of large predators (usually islands) and not on the scale of feral horses, goats, pigs, or dogs, although some feral populations have remained isolated long enough to be recognized as distinct breeds (Bixby and Sponenberg, 2008). Sheep breeding has always played an important role, mainly in less developed, rural, and mountain areas, where the production systems are interrelated with local traditions and native breeds (Rancourt *et al.*, 2006). In the last decades, the *focus* on production has remarkably changed sheep management, emphasizing the breeding of a small number of very productive and selected cosmopolitan breeds. This trend has also been observed in cattle breeding and is the consequence of socio-economic changes. Indeed, the continuous improvement of crop productivity and the subsequent low price of cereals led farmers to feed animals with grain instead of exploiting pastures and to change the production systems in favor of more productive and highly selected breeds (Mendelsohn, 2003). Therefore, the intensification of production systems and the success of industrial breeding have led farmers to abandon several autochthonous genotypes (Taberlet *et al.*, 2008). In the north-eastern part of Italy, the Veneto Region, the sheep population decreased drastically from 101,170 animals in 1953 (Montanari, 1954, Cabrio, 1965) to 34,734 animals in 1991, and several native breeds disappeared (Pastore and Fabbris, 1999). Nowadays, only 4 native breeds are still reared in Veneto: Alpagota (ALP), Brogna (BRO), Foza (FOZ), and Lamon (LAM). They are mainly found on farms located in mountainous and hilly areas, and due to their good adaptive traits and to their environmental role in exploiting marginal pastures, these breeds represent an important reservoir of genetic resources. Moreover, several studies have already indicated the presence of significant inbreeding in many native sheep breeds (Pariset *et al.*, 2003; Rendo *et al.*, 2004; Santos-Silva *et al.*, 2008),

suggesting that even domestic breeds belonging to species such cattle, sheep, and goat could be considered endangered (Taberlet *et al.*, 2008).

The aim of this paper was to study the genetic variability and presence of population substructures in native sheep breeds, reared in different conservation centers, using microsatellite markers.

MATERIALS AND METHODS

Research protocols followed the guidelines stated in the Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching (FASS, 1999).

Breed Description

The 4 Veneto native breeds (ALP, BRO, FOZ, and LAM) analyzed in the present paper are historically tied to mountain communities of the Veneto Italian region and have always been used for the production of traditional dairy or meat products. The following is a brief description of their main features.

The ALP is a small-sized sheep that originated in the Alpago mountains, and nowadays about 2,400 animals are enrolled in the flock book; it is listed in the FAO global databank for farm animal genetic resources where it is classified as endangered. It is a multipurpose breed (meat, milk, and wool), but now it is bred only for meat production due to its purported high quality. For these reasons, ALP lamb is 1 of the 270 districts in the world recognized by the Slow Food Foundation (2008), and its meat is sold to the best restaurants of the Veneto Region Slow Food district; there are local projects that work to improve the infrastructure of local food production. The goals of the district are to guarantee a viable future for traditional foods by stabilizing production techniques, establishing stringent production standards, and promoting local consumption for the breeds conservation. According to Di Stasio (1980), the good adaptive traits to the mountain environment exhibited by ALP are due to the greater frequency of A blood group with respect to other sheep breeds in which the B group is more frequent.

The BRO breed has been known since the 12th century and it's native to the Lessini mountains, although its origin are uncertain; at present the flock book accounts for

about 2,200 animals with an effective population size of about 1700 individuals. The BRO is a multipurpose breed (meat, milk, and wool), and its milk has been traditionally transformed to produce typical cheeses. The animals are medium to small in size and are very prolific, with a twinning rate of 58% as reported by Pastore and Fabbri (1999). The first evidence of the existence of the LAM breed traces to the 19th century; it was described as a rustic breed with low mortality rates and was the primary economic resource of local farmers (Pastore, 2002). Today, about 300 animals are enrolled in the flock book, and according to the FAO global databank for farm animal genetic resources, it is classified as endangered. The LAM sheep are well adapted to adverse conditions and are maintained in a semi-wild state without the use of any housing throughout the year. Its traditional management provided for flock migration from hill to plain in winter, from plain to hill in spring, and from hill to mountains in summer (Pastore, 2002). It is a multipurpose breed (meat, milk, and wool), but nowadays is kept only for meat, in particular for the production of a typical smoked meat.

The FOZ breed origins are uncertain, but it is native to the Asiago mountains; nowadays the situation of FOZ is very critical because its population size is estimated at only about 130 animals. The FOZ breed was traditionally reared for the quality of its wool, as showed by Tormen (2011) and was typically reared in small herds either transhumance or farm flock (Pastore, 2002). Appennica (APP) is a native breed from the 70's in central Italy, mainly in Toscana, Emilia, Umbria, Marche, Abruzzo regions of Italy; crossbreeding the local breed with other Italian sheep. It is a medium wool breed kept primarily for meat production. It is polled and has semi-lopped ears. In the present work, it was used as a reference population.

Animal Sampling

A total of 726 individual blood samples of 5 local sheep breeds (ALP: n=250, BRO: n=186, FOZ: n=118, LAM: n=141, and APP: n=31), were randomly collected. Samples from ALP, BRO, FOZ, and LAM were collected on one main (experimental) flock and in other secondary (conventional) flocks (ALP: n=33; BRO: n=14; FOZ: n=2; LAM: n=8) where they are maintained according to an in situ conservation

program. All of the animals present in the this study were sampled to estimate the degree of variability and the population structure of animals involved on a markers assisted conservation scheme, currently running in the Veneto Region. No information is available on pedigrees of secondary flocks.

Blood samples of APP were collected in several flocks and were used as a reference population. Blood samples were collected from each animal in 5 mL vacutainer tubes containing *sodium citrate* as anticoagulant and stored at -20 °C until analyses were performed. The DNA extraction was carried out employing the Gentra System PUREGENE® DNA purification kit (Gentra System, Minneapolis, MN) starting from 300 µL of whole blood.

Amplification and Genotyping of Microsatellite Markers

A panel of 17 microsatellite markers was established according to ISAG/FAO Standing Committee (2004) recommendations and to previous studies (Baumung *et al.*, 2006) to investigate highly polymorphic markers spread throughout the genome. The loci studied were OarAE54, OarFCB20, URB058, INRA023, TGLA53, MAF65, OarCP49, MAF214, HSC, INRA063, McM527, OarAE119, OarAE129, ILSTS087, OarFCB304, OarCP34, and CSRD247 (Table 1). Details on the amplification protocol and primer annealing temperatures can be found in Dalvit *et al.* (2008a, 2008b). Allele size was determined with a CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Fullerton, CA).

Statistical Analysis

We extracted, within each main flock per local breed, a random sample of 30 individuals per breed that we called "Correct sized samples". To guarantee that sample size is representative of the population of each breed.

Number of alleles per locus, allelic frequencies, and observed and expected heterozygosity were calculated using Genetix version 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 1996–2004). Exact tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (Guo and Thompson, 1992) were applied using a Markov-Chain Monte Carlo simulation (1,000 batches, 10,000 iterations per batch, and a dememorization number of 10,000) as implemented in GENEPOP version 3.4 (Raymond and Rousset, 1995). A

test for population differentiation was performed, as implemented in GENEPOP 3.4; for each locus, an unbiased estimate of Fisher's exact test was computed to verify if the allelic distribution was different among breeds. The Fstat 2.9.3 software (Goudet, 1995) was employed in calculations of allelic richness (an estimation of mean number of alleles per locus corrected by sample size), gene diversity (Nei, 1987), and estimation of Wright's fixation index (Weir and Cockerham, 1984). Molecular coancestry coefficients within and between breeds were measured according to Caballero and Toro (2002) using MolKin 3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005); to avoid bias, because of unequal sample sizes, 100 samples with exactly 50 individuals per breed were generated with a bootstrap procedure. To help set conservation priorities, Molkin 3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005) was used to quantify the contribution of each analyzed population to the diversity of the whole data set using the method proposed by Caballero and Toro (2002). APP is not a Veneto native breed involved in the conservation scheme but has been used as reference population. The genetic distances of Reynolds (D_R) among breeds were estimated, a Neighbor-Joining consensus tree was reconstructed, and tree robustness was evaluated by bootstrapping over loci (10,000 replicates) using the PHYLIP package (Felsenstein, 1993–2002); the dendrogram was depicted using the software package TreeView version 1.6.6 (Page, 1996). Reynolds distance is the most suited for relatively closely related populations such as breeds in Europe that diverged during short time periods; in fact, in this case, the amount of mutation is negligible and the main factor to describe genetic variability is random drift (Eding and Laval, 1999). Moreover, genetic distances among individuals were estimated as the proportion of shared alleles (D_{PS}) using MICROSAT 1.5 (Minch *et al.*, 1998); individual distances were represented by a Neighbor-Joining tree and displayed using MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007). To study population structure and to detect the most likely number of clusters (K) in the data set, the software STRUCTURE version 2.3 (Pritchard *et al.*, 2000) was used. The analysis involved an admixture model with correlated allele frequencies as suggested for several species by several authors (Pritchard *et al.*, 2000; Vicente *et al.*, 2008; Dalvit *et al.*, 2008a; Dalvit *et al.*, 2008b; Zanetti *et al.*, 2010). To choose the appropriate number of inferred clusters to model the data, 2 to 10 inferred clusters were performed with 50

independent runs each. All analysis used a burn-in period of 30,000 iterations and then 400,000 iterations for data collection. The best number of clusters fitting the data was established by plotting the $\ln \Pr(X | K)$ over the 50 independent runs for each K, as suggested by Pritchard *et al.* (2000). Just to incoming the plateau, the first value is used from a K number for reference. To find optimal alignments of independent runs, the computer program CLUMPP 1.2 (Jakobsson and Rosenberg, 2007) was used; the output obtained was used directly as input by the cluster visualization program DISTRUCT (Rosenberg, 2004) and editing by GIMP 2.6 (<http://http://www.gimp.org/>).

RESULTS

Genetic Variability at Microsatellite Loci

The total number of alleles detected in the entire data set was 342 (Total size sample) and 332 (Correct size sample), and all markers were polymorphic in each breed. Information about the variability of the investigated loci is shown in Table 1. The largest number of alleles was found at loci MAF214 (36 for Total size sample and 35 for Correct size sample) and INRA063 (25) and the smallest at locus TGLA53 (14 for Total size sample) or OarAE129 (11 for Correct size sample). Global mean number of alleles per locus was 20.1 and 19.5 (for Total size sample and for Correct size sample, respectively), and allelic richness, an estimate of number of alleles per locus corrected by sample size, was 7.6. The gene diversity across loci was 0.788, ranging from 0.883 (Total size sample) and 0.886 (Correct size sample) (URB058) to 0.595 or 0.600 (for Total size sample and for Correct size sample, respectively) (MAF214). Private alleles were detected in each breed and for some marker. However, allele frequencies were small and exceeded 0.01 in few cases. BRO exhibited 8 private alleles, FOZ 5 alleles, LAM 3 alleles and ALP only one allele.

Breed Variability and Differentiation

The genetic variability of each breed was studied, first, in terms of number of observed alleles and allelic richness, as shown in Table 2. ALP showed the largest number of alleles per locus (15.4 or 14.8), followed by BRO (13.6 or 13.3), LAM (12.2 or 12.1), FOZ (12.1 or 11.5) and APP the last (7.6). On the other hand, allelic richness

was very similar among breeds, with the exception of APP, which exhibited the small value (6.8). APP also exhibited considerable less heterozygosity (0.663), whereas in the native breeds, it was generally more: for Total size sample is $LAM=0.722$, for Correct size sample is $FOZ=0.722$. In general, all breeds showed heterozygosity estimates less than expected; a highly significant ($p<0.001^{***}$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium was observed in each of the breeds. This divergence was reflected in the F_{IS} index within breed, which was always positive and rather large, especially in ALP, which is the least variable native breed according to observed heterozygosity. Another way to measure within-breed diversity is the estimation of molecular coancestry, a measure of relatedness among individuals. Molecular coancestry estimates varied from 0.200 (FOZ) to 0.258 (APP), as shown in Table 2.

Considering only data by Correct size sample dataset, the breeds showed considerable genetic differentiation; in fact, the F_{ST} index was equal to 0.042. Moreover, the test for population differentiation revealed a highly significant ($p<0.001^{***}$) difference in the distribution of allelic frequencies among the breeds. The Neighbor-Joining tree constructed on D_R (Figure 1) showed a clear distinction between APP and the other 4 local venetian breeds, which appeared to be more similar. Results obtained with the Caballero and Toro (2002) approach to set up conservation priorities are illustrated in Table 3. The removal of 1 breed from the data set resulted one positive or negative contribution of genetic diversity in the population, which ranged from +1.357% to -0.890% when ALP and FOZ, respectively, were removed. The greatest loss of between-breed diversity was found by removing APP (-0.954%); on the other hand, its removal resulted in a contribution to the within-breed diversity (+0.220%). The native breed with the greatest loss of between-breed diversity was found by removing FOZ (-1.174%), while the removal of ALP resulted in a highest increasing of within-breed diversity (+0.149%). In Table 4 it is considered a dataset without the APP; the removal of secondary conservation flocks, resulted in a loss of genetic diversity within the populations, which ranged from -7.415 (FOZ) to -2.795 (LAM).

Population Structure

The structure of the total size sample from the breeds was analyzed using a Bayesian approach that inferred the number of clusters (K) present in the population, permitting detection of differences among breeds and hidden substructures within breeds. The $\ln \Pr(X | K)$ increased sharply from $K=2$ to $K=5$ and assumed as plateau from $K=6$ to $K=10$, as illustrated in Figure 2. The $K=7$ showed a slightly higher value of $\ln \Pr(X | K)$ at $K=5$, that we assumed negligible. Results of STRUCTURE analyses for the 4 local venetian breeds are shown in Figure 3 for $K=5$. It can be noticed that, apart from the number of clusters, a clear distinction among the 4 breeds was possible and only a small level of admixture was detectable. In this case, it is not reported the results of APP because of APP formed one distinct clusters group with high proportion of membership, and admixture was nearly absent. On the other hand, ALP, BRO, FOZ, and LAM exhibited a more complex structure with proportion of membership split into 2 or more clusters and an underlying presence of within breed substructures; nevertheless, admixture seemed to be negligible even among these breeds. The Neighbor-Joining tree, based on the proportion of shared alleles (Figure 1), showed by breed; in this case the results obtain using the total size sample or the correct size sample is equal. Some overlap was present between FOZ and LAM animals, which are, in some cases, grouped together. It is interesting to see that the tree could be separated into 3 groups, one composed of ALP and LAM groups, one composed of BRO group and one composed of FOZ and APP, with a clear distance between them. This evidence is representative by the distribution of individuals by the Correct size sample, according to principal components factor (axis 1=38.06%, 2=23.62%, and 3=20.49%), Figures 4 and 5, shows a clear separation of APP breed (axis 1) from local venetian breeds. The latter breeds (ALP, BRO, FOZ and LAM) are separated mainly along the axis 3 and axis 2.

DISCUSSION

Reasons for conserving animal genetic resources have already been underlined by several authors (Mendelsohn, 2003; Rege and Gibson, 2003; Cervantes *et al.*, 2011), and in our case, the conservation of ALP, BRO, FOZ, and

LAM is carried out for their important environmental role in exploiting mountain and marginal pastures, for the cultural value that these breeds are used for the production of typical foods linked to old traditions and for the interesting adaptive traits representing genetic stocks that could transmit favorable traits to new breed crosses. In fact, the abandonment of pastures results in a landscape change in favor of the expansion of woodlands, as observed by Giupponi *et al.* (2006) in a study of the land use changes in the Belluno Veneto province. This loss of landscape diversity is negative for the aesthetic-recreational appeal of the area because it has been shown that tourism activities favor maintaining a more pleasant landscape and avoiding excessive afforestation (Giupponi *et al.*, 2006). This question is of outstanding importance as tourism plays an important role in the economy of the Veneto region. In addition, landscape changes also have negative effects on the habitats of species of naturalistic interests (Giupponi *et al.*, 2006). Regarding the cultural value, these breeds are used for the production of typical foods linked to old traditions as reported by Rege and Gibson, 2003 and about the interesting adaptive traits representing genetic stocks that could transmit favorable traits to new breed crosses. Currently, two to these features, these 4 local breeds have been enrolled in an *in situ* conservation program aiming to increase the population size, to maintain genetic variability, to organize matings, and to avoid crossbreeding, which was rather common in small flocks. Indeed, *in situ* preservation of endangered breeds should be preferred to *ex situ* or cryo-conservation because *in situ* preservation promotes sustainable management of genetic resources and permits conservation of all features carried by a specific breed (Taberlet *et al.*, 2008). Moreover, *in situ* conservation allows animals to be kept in the original area of production. This aspect is important considering the link between Veneto sheep breeds and their typical production. Product valorization is also a step toward the sustainability of these breeds in case Italian or European government subsidies are not available in the future. An example of the profitability of rearing local and less productive breeds in marginal areas, when there is a strong link among breed, territory, and product, has been examined by Pretto *et al.* (2009) in a study of the native Italian Burlina cattle breed. The first step toward safeguarding of ALP, BRO, LAM, and FOZ was the choice of

the founder animals to rear in the conservation nucleus, according to their phenotypic traits. It is worth mentioning that, for the FOZ and LAM breeds, the situation was extremely critical because their population size is extremely small. Nevertheless, these were the 2 breeds showing the greatest variability and the least, but significant, deficit of heterozygotes. This lack of heterozygotes could be caused by the presence of population substructures, rather than by increased levels of inbreeding. In fact, results obtained with *STRUCTURE* evidenced a complex substructure with proportion of membership. The observed substructures could be due to the choice of founder animals that were collected on different farms and were probably genetically and geographically distant; to remove such structures, more generations of selected matings within the conservation flock are needed. On the other hand, molecular coancestry estimates were slightly less than were found in some Spanish sheep breeds (Legaz *et al.*, 2008) and significantly less when compared with Spanish breeds considered as endangered (Álvarez *et al.*, 2005). The BRO breed presented a similar situation, even if it seemed to retain decreased genetic diversity. The ALP and BRO breeds showed the least observed heterozygosity, the greatest F_{IS} , and the greatest molecular coancestry estimates. Comparable levels of variability were observed in the autochthonous Chiapas breed from Mexico (Quiroz *et al.*, 2008) and in the Italian Sarda population (Pariset *et al.*, 2003). In this case, the significant deficit of heterozygotes seemed to be caused mainly by inbreeding because *STRUCTURE* did not detect any substructure in ALP. This hypothesis was also supported by the fact that ALP has been reared mainly in a rather isolated area and its breeding did not provide any transhumance activity; in this way exchange of genetic material and crosses with other breeds were more difficult. Confirmation of the genetic distinctness and isolation of ALP could be seen as well in the principal components analyses, which shows a clear separation of ALP from local Veneto breeds, moreover the ALP contribution on genetic diversity ranged from +1.080 to +1.357 without or with APP breed considered, respectively. The breeds analyzed in this study showed clear genetic differentiation because 8.5% of the genetic variability was explained by differences among breeds; similar levels of differentiation were detected by Baumung *et al.* (2006) in an analysis of Austrian sheep breeds. Usually, native

breeds coming from the same geographic area showed much smaller estimates of genetic differentiation as presented by other authors in Portuguese ($F_{ST}=0.049$, Santos-Silva *et al.*, 2008), northern Spanish ($F_{ST}=0.029$, Rendo *et al.*, 2004), and Alpine ($F_{ST}=0.057$, Dalvit *et al.*, 2008a and 2008b) sheep breeds. Moreover, more proportions of private alleles were detected in each breed. Among the 4 native breeds, BRO showed private alleles with greater frequencies, confirming its uniqueness and isolation.

Results of the analysis support conservation of ALP, BRO, FOZ and LAM as separate breeds with unique features. Indeed, removal of any of the 4 local breeds would result in a loss of genetic diversity. Extinction of ALP would result in an increase, because of its high inbreeding, as shown by the within breed diversity. In fact, the approach by Caballero and Toro (2002) suggests that within - and between - subpopulation variability should be included in conservation decisions; ignoring the within breed variability will, in fact, favor inbred populations and populations with extreme allele frequencies (Toro and Caballero, 2005). Extinction of any of the other 3 breeds would instead result mainly in loss of within-breed variability. It is worth mentioning that the loss of diversity caused by removal of any of the studied breeds appeared small, being on average nearly 1%; however, this estimate was large compared with literature results. Fabuel *et al.* (2004), Glowatzki-Mullis *et al.* (2008), and Thirstrup *et al.* (2008) found smaller estimates in studies of Iberian pig, Swiss goat, and Danish horse breeds, respectively. The relatively fewer alleles richness (AR) of main flocks respect to secondary flocks indicate that within each breed the main conservation flock represents a limited sample of the gene pool. A confirm of this is showed to the large loss of genetic diversity when secondary flocks are removed by the analyses. In conclusion, the present study highlighted the importance of comparison the genetic diversity among main and secondary flocks to safeguard native sheep breeds. Indeed, the differences among type of flocks are an important reservoir of genetic variation and of genetic uniqueness.

TABLES AND FIGURES

Table 1. Microsatellite markers with corresponding fragment size, chromosomal location, total number of detected alleles (TNA), allelic richness (AR), and gene diversity (GD)

LOCUS	FRAGMENT SIZE	CHROMOSOME	TOTAL SIZE SAMPLE			CORRECT SIZE SAMPLE		
			TNA	AR	GD	TNA	AR	GD
CSRD247	211-264	14	24	9.1	0.829	24	9.1	0.825
HSC	263-301	20	19	8.9	0.851	19	9.0	0.855
ILSTS087	137-173	6	23	9.3	0.854	22	9.4	0.857
INRA023	198-223	1	16	8.3	0.839	16	8.4	0.841
INRA063	168-206	14	25	7.8	0.788	25	7.8	0.787
MAF214	175-267	16	36	5.7	0.595	35	5.6	0.600
MAF65	118-140	15	18	5.8	0.747	18	5.8	0.742
MCM527	165-184	5	15	6.3	0.757	15	6.3	0.756
OARAE119	145-184	19	20	4.8	0.662	20	7.8	0.838
OARAE129	136-167	5	15	7.9	0.839	11	4.7	0.658
OARAE54	122-148	25	19	9.3	0.857	19	9.4	0.859
OARCP34	99-117	3	18	6.4	0.778	16	6.5	0.783
OARCP49	75-135	17	24	8.4	0.789	23	8.5	0.789
OARFCB20	85-118	2	17	7.4	0.802	17	7.4	0.802
OARFCB304	154-191	19	19	6.1	0.698	19	6.1	0.694
TGLA53	140-163	12	14	7.7	0.821	13	7.8	0.827
URB058	159-201	13	20	9.9	0.883	20	9.9	0.886
MEAN			20.1	7.6	0.788	19.5	7.6	0.788

Table 2. Dataset used by Total size sample and Correct size sample by main flock number sample (30 animals). Number of analyzed samples, total number of alleles (TNA), expected (H. exp.) and observed (H. obs.) heterozygosity, within-breed heterozygote deficiency (F_{is}), and within-breed molecular coancestry (f_{ij}) for each breed analyzed.

Dataset	Breed	Sample size	TNA	H. exp. $\pm$ SD	H. obs. $\pm$ SD	F_{is}	$f_{ij} \pm$ SD
Total size sample	ALP	250	15.4	0.768 ± 0.111	0.675 ± 0.161	+0.125***	$+0.242 \pm 0.044$
	APP	31	7.6	0.745 ± 0.071	0.663 ± 0.141	+0.118***	$+0.258 \pm 0.028$
	BRO	186	13.6	0.788 ± 0.078	0.701 ± 0.095	+0.100***	$+0.221 \pm 0.028$
	FOZ	118	12.1	0.804 ± 0.091	0.720 ± 0.150	+0.103***	$+0.200 \pm 0.034$
	LAM	141	12.2	0.800 ± 0.075	0.722 ± 0.112	+0.094***	$+0.206 \pm 0.031$
Correct size sample	ALP	216	14.8	0.770 ± 0.114	0.672 ± 0.161	+0.127***	$+0.244 \pm 0.044$
	APP	31	7.6	0.745 ± 0.071	0.663 ± 0.141	+0.118***	$+0.258 \pm 0.028$
	BRO	158	13.3	0.789 ± 0.080	0.703 ± 0.086	+0.100***	$+0.221 \pm 0.028$
	FOZ	106	11.5	0.804 ± 0.094	0.722 ± 0.155	+0.098***	$+0.200 \pm 0.033$
	LAM	130	12.1	0.797 ± 0.077	0.719 ± 0.111	+0.093***	$+0.211 \pm 0.031$

$p < 0.001$ ***

Table 3. Loss or gain of genetic diversity (GD, in %) in the population when one breed is removed according to the approach of Caballero and Toro (2002). Between brackets are reported the results without using APP breed.

Breed	GD	Within breeds	Between breeds	Contribution of diversity
ALP	0.822 (0.813)	+1.209 (+1.423)	+0.149 (-0.343)	+1.357 (+1.080)
APP	0.803	+0.220	-1.174	-0.954
BRO	0.810 (0.801)	-0.189 (-0.054)	+0.108 (-0.300)	-0.081 (-0.354)
FOZ	0.804 (0.794)	-0.598 (-0.561)	-0.292 (-0.635)	-0.890 (-1.196)
LAM	0.808 (0.798)	-0.463 (-0.509)	+0.093 (-0.235)	-0.370 (-0.745)

Table 4. Correct size sample by main flock number sample (30 animals). Number of analyzed samples, total number of alleles (TNA), allelic richness (AR), expected (H. exp.) and observed (H. obs.) heterozygosity, within-breed heterozygote deficiency (F_{is}), and within-breed molecular coancestry (f_{ij}) for each breed and conservation unit analyzed (in the dataset were considered only Veneto local breeds, ALP, BRO, FOZ and LAM)

Breed	Sample size	TNA	AR	H. exp. $\pm$ SD	H. obs. $\pm$ SD	F_{is}	Contribution of diversity
ALP							
- main flock	30	7.3	7.2	0.706 ± 0.169	0.721 ± 0.204	-0.019***	+0.189
- secondary flocks	186	14.2	9.7	0.773 ± 0.113	0.662 ± 0.162	+0.139***	-7.415
BRO							
- main flock	30	7.6	7.2	0.732 ± 0.101	0.728 ± 0.140	+0.009***	+0.371
- secondary flocks	128	12.9	9.0	0.793 ± 0.076	0.696 ± 0.085	+0.109***	-6.390
FOZ							
- main flock	30	8.1	7.7	0.756 ± 0.110	0.706 ± 0.141	+0.065***	-0.209
- secondary flocks	76	10.6	8.5	0.801 ± 0.086	0.730 ± 0.176	+0.087***	-6.237
LAM							
- main flock	30	8.1	7.9	0.770 ± 0.070	0.746 ± 0.139	+0.015***	-0.949
- secondary flocks	100	11.3	8.7	0.791 ± 0.078	0.711 ± 0.116	+0.100***	-2.795

$p < 0.001$ ***

Figure 1. Representation of Neighbor-Joining Reynolds' genetic distance among Alpagota (ALP), Brogna (BRO), Foza (FOZ), Lamon (LAM) and Appenninica (APP) breeds, based on 10,000 replicates.

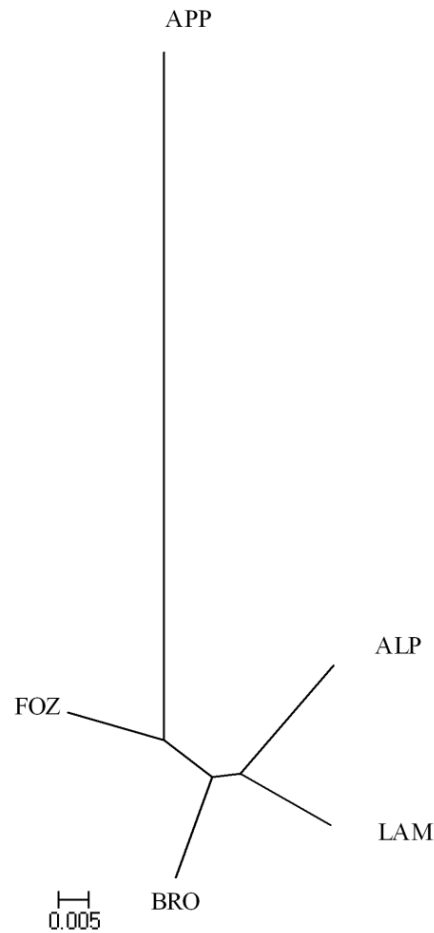


Figure 2. Estimated posterior probabilities [$\ln \Pr(X | K)$] for different numbers of inferred cluster (K) by methods of Pritchard (2000).

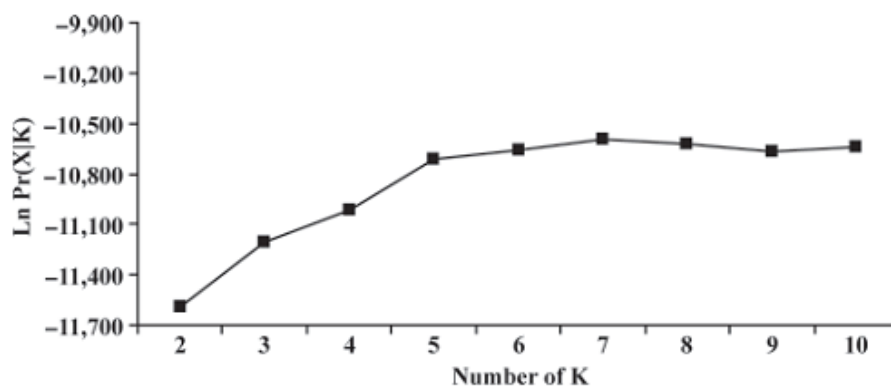


Figure 3. Graphical representation of the estimated membership fractions of individuals of the breeds analyzed in each of the K inferred cluster; in this case the representation is given by K=5 only the Venetian local breeds, the Appenninica (APP) breed stands out clearly and is therefore omitted.

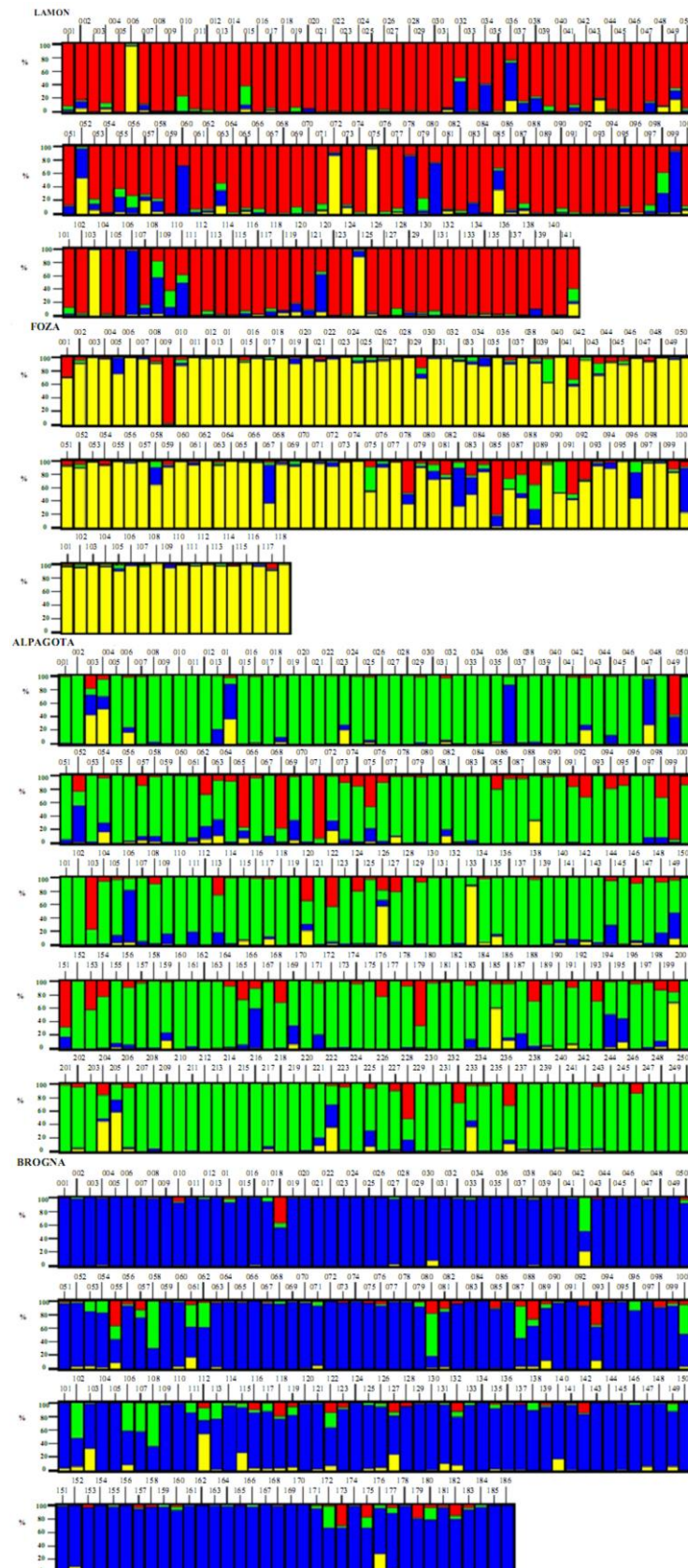


Figure 4. Distribution of individuals according to principal components factor (1. 2 and 3). If you return the value of the analysis taking into account dell'outgroup reference, the Appenninica breed (APP). Legend of the colours: ALP = yellow; BRO = white; FOZ = gray; LAM = purple; APP = blue.

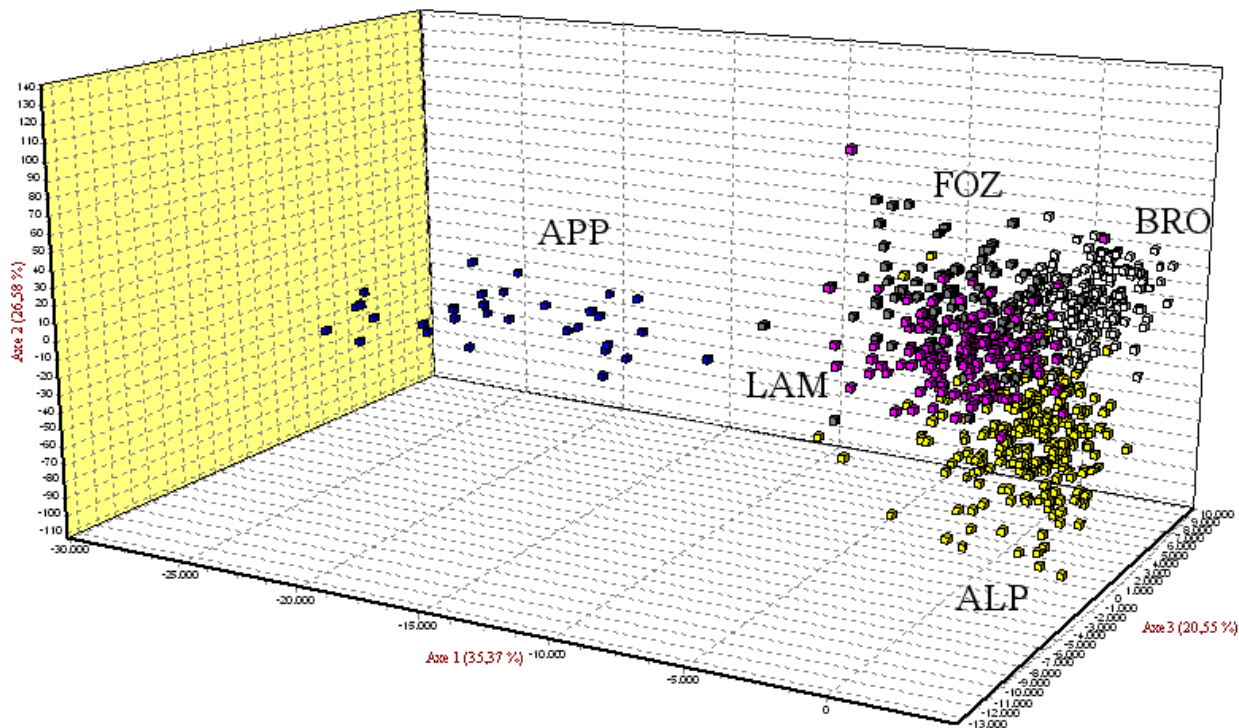
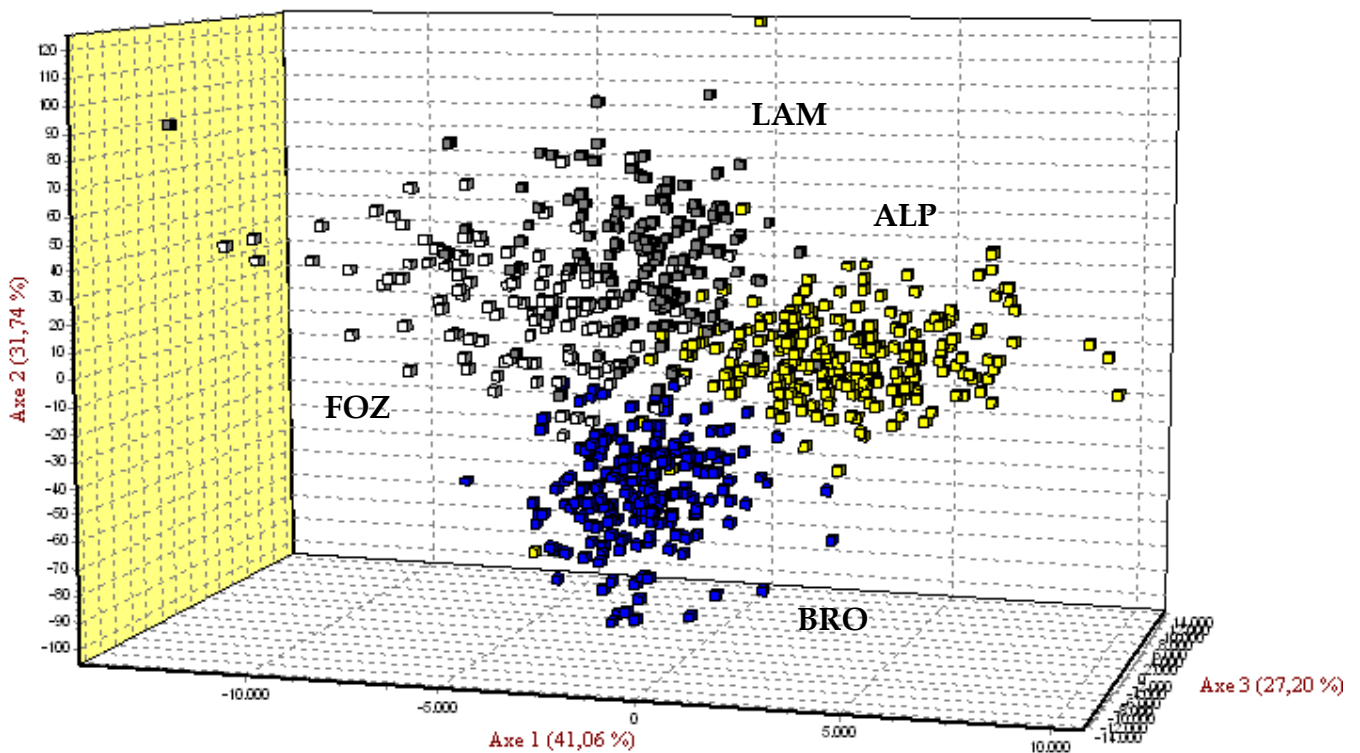


Figure 5 Distribution of individuals according to principal components factor (1. 2 and 3) by "Correct size". Legend of the colour: ALP = yellow; BRO = blue; FOZ = white; LAM = gray (axis 1th=41.06%, 2th= 31.74% and 3th=27.20%)



SIMULATIONS FOR SCRAPIE ERADICATION IN TWO LOCAL ITALIAN SHEEP BREEDS

Parte dei risultati esposti sono stati presentati nel seguente lavoro:

Tormen, N., Abbadi, M., Zanetti, E. , Dalvit, C., Filippini, R., Cassandro, M., (2010).

The genetic diversity in two local Italian sheep breeds: is selective breeding against scrapie susceptibility possible? *Acta Agraria Kaposváriensis* , 14:2, 259-266

INTRODUCTION

Scrapie is a fatal neurodegenerative disease belonging to the group of transmissible spongiform encephalopathies, affecting sheep and goats. It has been shown that the susceptibility or resistance of sheep to scrapie is influenced mainly by mutation in the codons 136, 154 and 171 of the third exon of the prion protein (*PrP*) gene (*PRNP*) (Hunter, 1997). It is generally accepted that mutations coding for alanine at codon 136 (A136) and for arginine at codon 171 (R171) confer higher resistance, while those coding for valine (V136) and glutamine (Q171) render animals more susceptible to scrapie; polymorphisms in codon 154 are considered to have minor importance (Hunter, 1997; Elsen *et al.*, 1999). In the light of this scientific evidence, the European Union classified the genotypes at these three codons in five classes (Risk I = ARR/ARR, Risk II ARR/AHQ AHQ/AHQ, Risk III = ARR/ARQ ARR/ARK ARR/ARH ARQ/ARQ ARQ/ARK ARQ/ARH ARQ/AHQ ARH/ARK AHQ/ARK AHQ/ARH, Risk IV = ARR/VRQ ARK/VRQ AHQ/VRQ and Risk V = VRQ/VRQ ARQ/VRQ ARH/VRQ) from highly resistant (Risk I) to highly sensitive (Risk V) and established that breeding programmes aiming at decreasing scrapie susceptibility should be implemented in all European sheep breeds (EC, 2003). To achieve such goal breeding scheme must increase the frequency of the ARR/ARR genotype and eradicate completely the VRQ allele. However, application of these kind of schemes could be dangerous in many local breeds facing extinction as the available genetic variability will be reduced affecting conservation programmes as observed by several authors (Alfonso *et al.*, 2006; Mann *et al.*, 2007; Van Kaam *et al.*, 2008). In Italy today there is a statutory exception that permits the exclusion from the plan for the selection of rare breed sheep entered in the herd book; is optional the admission of many breeders to plan in these cases. The analysis of genetic variability and the estimation of its possible loss could be assessed using different criteria mainly based on pedigree information, anyway in sheep breeding and especially in small local populations, pedigree information are often unknown (Goyache *et al.*, 2003); in this case the use of molecular markers to evaluate molecular diversity could be a valuable alternative (Alfonso *et al.*, 2006; Álvarez *et al.*, 2007). The native breeds as Alpagota (ALP) and Brogna (BRO) analyzed, are historically tied to mountain communities of the Veneto Italian region and have

always been used for the production of traditional dairy or meat products. The ALP is a small-sized sheep (Alpago mountains), and nowadays about 2,300 animals are enrolled in the herd book; it is listed in the FAO global databank for farm animal genetic resources where it is classified as endangered. It is a multipurpose breed (meat, milk, and wool), but now it is bred only for meat production due to its purported high quality. The BRO breed is native to the Lessini mountains; at present the herd book accounts for about 1,450 animals. The BRO is a multipurpose breed (meat, milk, and wool), and its milk has been traditionally transformed to produce typical cheeses. The animals are medium to small in size and are very prolific, with a twinning rate of 58% as reported by Pastore and Fabbri (1999). The local sheep breeds as Alpagota (ALP) and Brogna (BRO), are reared in north-east Italy and nowadays they can be considered meat type. Their importance is due to their possibility to exploit marginal areas and to the production of typical products of economic interest in niche markets (es. "Alpago Lamb", Slow Food Presidia in the 2008). At present they are considered as endangered and they are part of a conservation programme but no data on their susceptibility to scrapie are available.

Aim of this study was to simulate a mating scheme in one simulated population and to evaluate the contribution (positive or negative) of heterozygosity in local sheep breeds under conservation scheme for reducing scrapie susceptibility.

MATERIALS AND METHODS

In this study we have analyzed 118 animals, 23 males and 42 females for BRO and 27 males and 26 females for ALP. From each individual, 250 µl of blood was transferred on paper, FTA cards (FTA Nucleic Acid Collection, Storage and Purification, Whatman) for more rapid DNA extraction. Two disks obtained punched the FTA card were treated by running 3 washes of 5 minutes each in 200 µl of FTA Purification Reagent and then a wash of 5 minutes 200 µl TE Buffer (10mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8.0). The stage of purification was made by treating punches with 70% ethanol washes in cold running two centrifugal to 4000 RPM for 5 minutes. Once dry, the disks were used directly in the amplification mix. The

extracted DNA was amplified by PCR at 17 microsatellite loci (Table 1). Two punches were added 15 µl total reaction mixture containing 1X PCR buffer (16 mM (NH₄)₂SO₄, 67 mM Tris-HCL pH 8.8, 0.01% Tween 20), 0.35 µl of forward and reverse primer, 0.2 mM dNTPs, 0.3 mM of MgCl₂ and 0.01 U/ µl of *Taq* DNA polymerase, in a final volume of 15 µl. Details on the primer annealing temperatures can be found in Dalvit *et al.* (2008a and 2008b). Allele size was determined with a CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Fullerton, CA). A panel of 17 microsatellite markers was chosen according to ISAG/FAO Standing Committee (2004) recommendations and to previous studies (Baumung *et al.*, 2006, Dalvit *et al.*, 2008b, Dalvit *et al.*, 2009) to investigate highly polymorphic markers spread throughout the genome.

Moreover, as a complete pedigree was absent, the investigated breeds were genotyped at 17 microsatellite loci to assess their genetic variability and to evaluate through simulations generations the possible variability loss if selection against sensitive genotypes will be carried out. The approach of simulation obtained by generating successive populations through Hybridlab software version 1.0 proposed by Einar *et al.* (2006), is used in this work to obtain information on temporal genetic populations of sheep which has available only a representative sample of the initial population but without adequate reference data. The following assumptions were made: a) the allelic frequencies of the sampled individuals are representative of the original populations; b) all rams and females have the same reproductive performances, c) males are selected by random drawing and used only for one round of mating, d) the number of individuals making up the sample population is fixed. For each real subject information about sex, scrapie genotype and the genotype at the 17 microsatellite loci and was used for selection and for the simulated mating process.

Population of 1000 samples was generated from the original individuals (real): 521 F (♀) and 479 M (♂) for ALP; 503 F (♀) and 497 M (♂) for BRO; these were considered all females was chosen as a number equal to 1/5 the number of females to males. By these males was extracted from a number equal to 1/20 (actual sex *ratio* in the populations investigated) the number of females from representative subgroups of allele frequencies (investigated for scrapie) real males. In this way it could create a

generation simulated (pop_T0), shows in the Figure 1. Representative actual frequency of males, consisting of adult females (Fa), adult males (Ma) and male comeback year for domestic (Mβ). The Figure 2 shows the example of the pattern of intersections adopted. Composition of the respective compositions of the populations placed under review, taking stock of the study at the end of each of the 4 hypothesized reproductive events after the selections and the lambs before the next breeding. Three cases were determined, the absence of selection (NO selection), selection for scrapie eradication (YES selection) with removing the V class or the IV and V class, respectively. In the first case the males are sampled randomly from the entire gene pool of the offspring, while in the latter case, the sample of subjects from which to extract the animals for the comeback is reduced because it eliminates the class V or IV and V. There is selection in females. The number of offspring equals the number of breeding females on average prolificacy of the breed (if fixed of 145% for ALP and BRO)

Number of alleles per locus, allelic frequencies, and observed and expected heterozygosity were calculated using Molkin version 3.0 and Genetix version 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 1996–2004). A test for population differentiation was performed, as implemented in GENEPOP version 4.0. Molecular coancestry coefficients within and between breeds were measured according to Caballero and Toro (2002) using Molkin version 3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005). The differences for frequency scrapie genotype between observed and expected heterozygosity were tested by χ^2 test.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 showed that the total number of alleles for both selected and unselected groups (NO selection and YES selection) detected in Alpagota was 158 (mean 9.29, SD $\pm$ 2.95), and in Brogna (was 186 (mean 10.94, SD $\pm$ 3.05). The largest number of alleles was found at loci URB058 (16) for Alpagota and OarCP49 (17) for Brogna; the smallest at locus McM527 (4) for Alpagota and OarAE129 for Brogna. The result is equal from only typology of population considerate, and computing of the differences for the total number of alleles, no differences were detected for both Alpagota and Brogna. This indicates that, if the assumptions were

guaranteed, it would be possible to exclude the Risk Class V, or IV and V, by selection without loss of genetic diversity. The genetic variability of each population was studied in terms of number of observed alleles and molecular coancestry, as shown in Table 3. The results of the analysis on simulated populations were consistent with those made by similar populations on Dalvit *et al.* (2009). The observed and expected heterozygosity was constant over generations. Also the values of molecular coancestry were constant within-population and they are similar for all three situations considered. How it was possible to expect, however, the observed heterozygosity was slightly decreased from T0 to T3, except for the population selection ALP YES (class IV and V). Overall the differences among the frequencies of the scrapie genotypes between observed and expected heterozygosity in all 4 populations was not significant (χ^2 test). Considering then the percentages of allele frequencies (Table 4 and Figure 3) decreased slight decrease of the frequency of the VRQ allele in generations of populations subjected to selection is evidenced for elimination of Risk Class contain the VRQ allele, while observing the opposite phenomenon in populations not subject to selection. For the ALP and BRO breeds, the elimination of males with both selection schemes has led to a negative trend of the percentage difference by VRQ allele. As for the ARR allele (responsible for the degree of susceptibility to disease), the trend is always given by positive values. Considering the ALP breed, the variation for the frequencies of the scrapie susceptibility alleles range from approximately 0 to about -1.5% between selected and unselected populations, with overall lower values (compared to the population of T considered) for selection of both IV and V classes. For the BRO breed, however, the allelic frequencies differences in the initial pool generation showed higher decrease following selection. Differentiation from the unselected and selected populations over time, brings to variations in the scrapie alleles frequencies up to -4% in the case of the V class selection, and to -6% for the IV and V classes selection.

CONCLUSION

In the Veneto local sheep breeds the selection plan for reducing scrapie susceptibility (EC, 2003) is not applied, according to Italian law. Moreover, the

reduced number of the population is the problem that a possible selection as that prohibiting the use of sheep belonging to Risk Class V should gradually increasing the loss of heterozygosity in local sheep breeds. In this study it was possible to verify that the results of analysis on simulated populations were consistent with those made in previous study. The assumptions used in this study were upheld in field condition, the plan coupled with selection and elimination of males belonging to the Risk Class V may be used, because of: 1) there is no difference between the number of alleles of the gene pool based on 4 populations selected by the 4 selected for both Alpagota for Brogna, 2) the molecular coancestry values were constant within-population, 3) the simulation shows a decrease in the frequency of the VRQ allele in generations of populations subjected to selection, unlike those not subject to selection.

TABLES AND FIGURES

Figure 1. Simulated mating scheme. Creation of the simulated T0 population. M = males, F = females; a = progressive number generation; g = the generation simulated; T0 = population of the time 0.

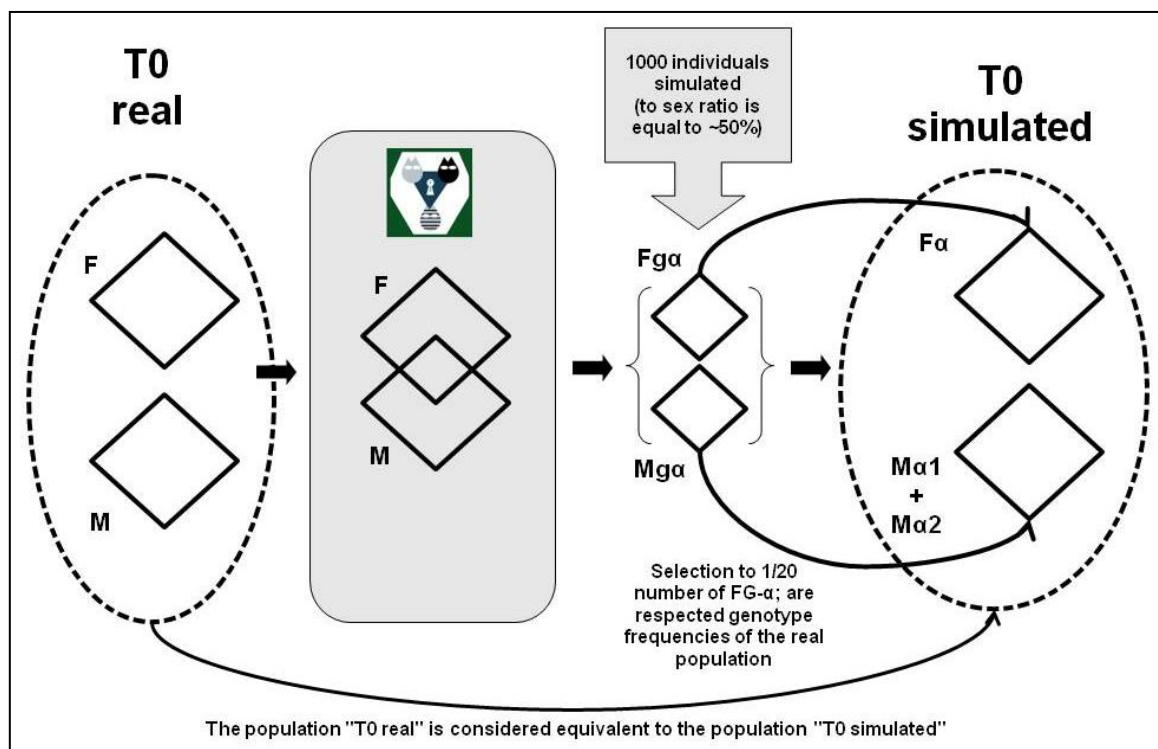


Figure 2. Simulated mating scheme used. Example to explication system in the population simulated, by T0 from T2.

Legend: M = males, F = females; α - β - γ = progressive number generation; -s = selection ($M = 1/20$, $F = 1/10$ to number of Fa, respectively); $((Fa-10\%) + (Fga-s)) = F\beta$; $(((((Fa-10\%) + (Fga-s))-10\%) + (Fg\beta-s))) = F\gamma$; in bold are the subject breeding; g = the new generation; T + progressive number = population of the time 0, 1, 2, etc., respectively.

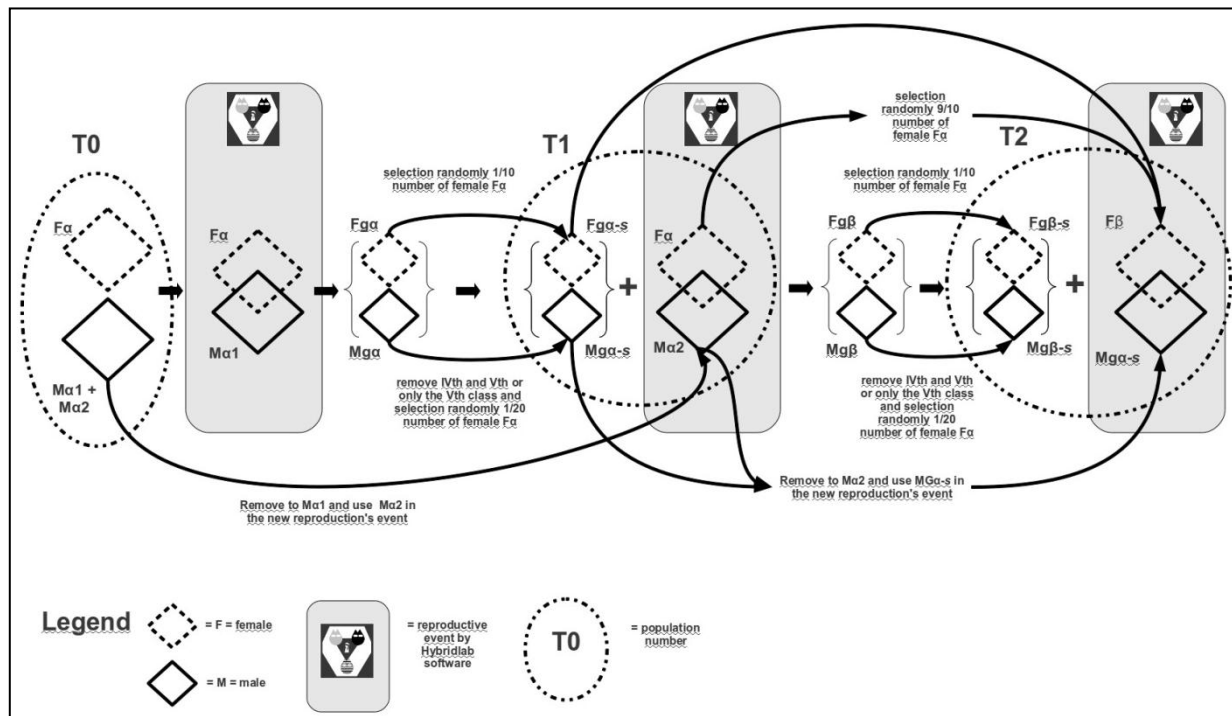


Table 1. Table to total population considerate from the analysis.

M = males, F = females; α - β - γ = progressive number generation; in bold are the subject breeding; g = the new generation; T + progressive number = population of the time 0, 1, 2, etc., respectively.

Population	Composition
T0	Fa + Ma + M β
T1	Fa + Mβ + (Fga-s) + (Mga-s)
T2	((((Fa-10%) + (Fga-s)))) + (Mga-s) + (Fg β -s) + (Mg β -s)
T3	(((((Fa-10%) + (Fga-s))-10%) + (Fgβ-s))) + (Mgβ-s) + (Fg γ -s) + (Mg γ -s)

Table 2. Microsatellite markers with corresponding fragment size (FS), chromosomal location (CL), average number of alleles for microsatellite (NA) and variation of NA by breed population (Δ NA).

Locus	FS	CL	ALP		BRO	
			NA		NA	
			A-B-C ¹	Δ NA ²	A-B-C ¹	Δ NA ²
CSRD247	213–259	14	11	0	12	0
HSC	263–299	20	13	0	14	0
ILSTS87	138–178	6	12	0	15	0
INRA023	196–224	1	9	0	10	0
INRA063	162–210	14	7	0	14	0
MAF214	185–261	16	9	0	10	0
MAF65	121–143	15	7	0	9	0
McM527	171–189	5	4	0	8	0
OarAE119	147–185	19	8	0	10	0
OarAE129	137–157	5	7	0	5	0
OarAE54	122–156	25	9	0	9	0
OarCP34	100–128	3	7	0	7	0
OarCP49	69–119	17	13	0	17	0
OarFCB20	92–122	2	7	0	12	0
OarFCB304	150–198	19	9	0	10	0
TGLA53	140–168	12	10	0	11	0
URB058	161–209	13	16	0	13	0
Total			158		186	
Mean $\pm$ DS			9.29 $\pm$ 2.95		10.94 $\pm$ 3.05	

Legend: ALP = Alpagota; BRO = Broгна; A = NO selection; B = YES selection (V class); C = YES selection (IV and V class); 1 = the values of the three categories are equal; 2 = the values of the difference are equal.

Table 3. Number of analyzed sample (Sample size), expected (H. exp.) and observed (H. obs.) heterozygosity, within-breed molecular coancestry (Kinsub or K) for each population analyzed.

Population		ALP_T0	ALP_T1	ALP_T2	ALP_T3	BRO_T0	BRO_T1	BRO_T2	BRO_T3
Sample size		573	625	625	625	547	597	597	597
NO selection	H. obs.	0.756	0.755	0.754	0.752	0.789	0.789	0.785	0.782
	± SD	0.159	0.156	0.158	0.155	0.105	0.1	0.096	0.097
	H. exp.	0.739	0.739	0.739	0.739	0.764	0.764	0.766	0.767
	± SD	0.152	0.151	0.152	0.15	0.088	0.088	0.087	0.087
	K	0.262	0.261	0.261	0.261	0.236	0.236	0.234	0.233
YES selection (V class)	H. obs.	0.757	0.752	0.749	0.744	0.788	0.785	0.78	0.778
	± SD	0.159	0.159	0.159	0.158	0.107	0.108	0.105	0.104
	H. exp.	0.739	0.738	0.738	0.737	0.764	0.763	0.763	0.762
	± SD	0.152	0.153	0.153	0.153	0.088	0.089	0.089	0.09
	K	0.262	0.262	0.262	0.263	0.236	0.237	0.237	0.238
YES selection (IV and V class)	H. obs.	0.757	0.755	0.754	0.757	0.79	0.787	0.785	0.782
	± SD	0.158	0.158	0.155	0.154	0.104	0.099	0.098	0.096
	H. exp.	0.739	0.738	0.74	0.74	0.764	0.763	0.764	0.764
	± SD	0.151	0.153	0.151	0.151	0.088	0.089	0.088	0.088
	K	0.261	0.262	0.261	0.261	0.236	0.237	0.236	0.236

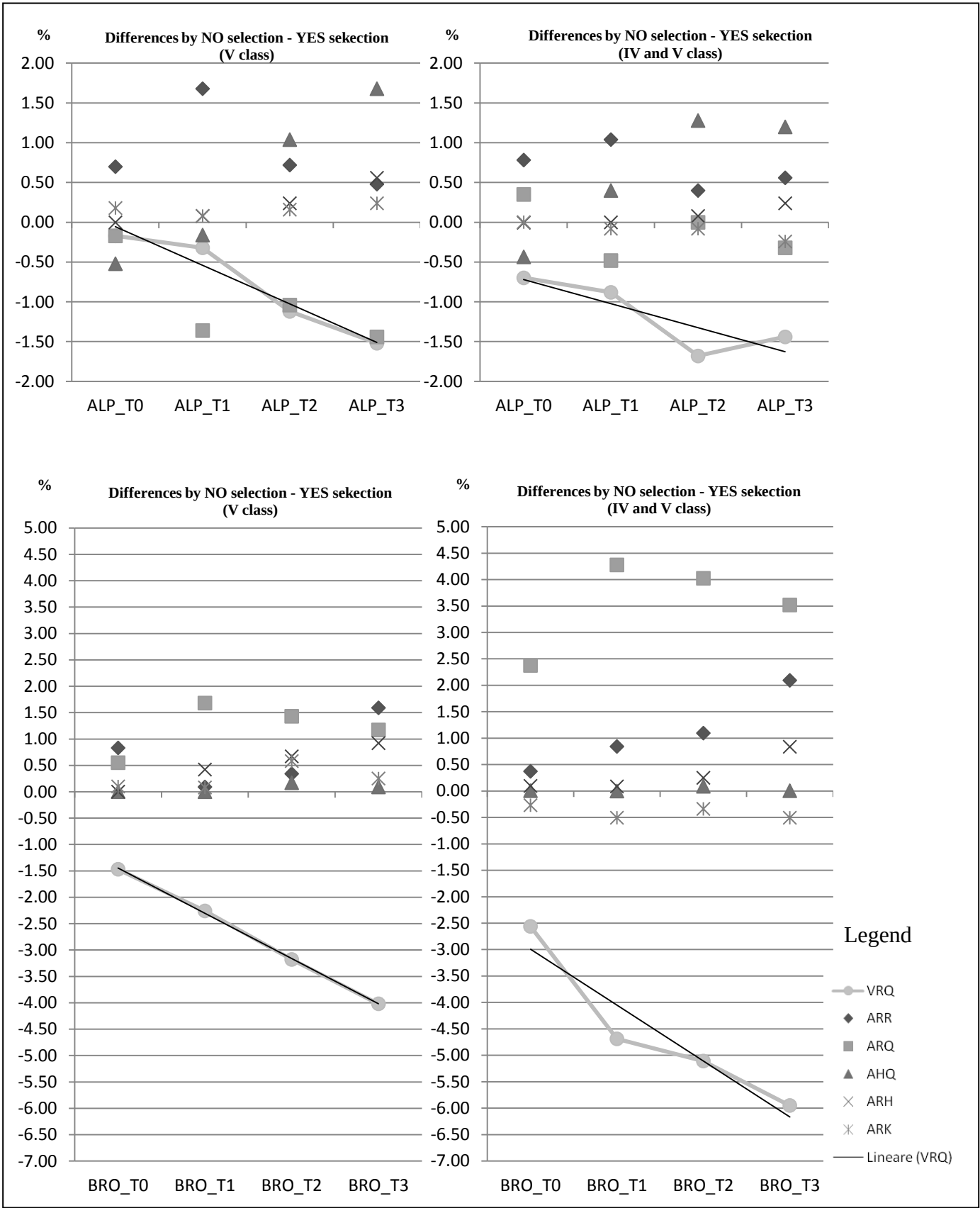
Legend: ALP = Alpagota; BRO = Brogna; T0, T1, T2 and T3 = Time year 0, 1, 2 and 3, respectively.

Table 4. Percentages of total alleles within-breed and across selection strategies.

	Population	Sample size	% of total alleles					
			ARR	ARQ	AHQ	ARH	ARK	VRQ
NO selection	ALP_T0	1146	15.36	63.00	9.16	0.79	0.87	10.82
	ALP_T1	1250	14.88	64.16	8.88	0.64	0.88	10.56
	ALP_T2	1250	15.84	63.20	8.16	0.48	0.96	11.36
	ALP_T3	1250	15.92	63.36	7.92	0.40	1.04	11.36
	BRO_T0	1094	23.03	48.54	0.91	2.83	1.55	23.13
	BRO_T1	1194	23.28	48.07	0.84	2.93	1.68	23.20
	BRO_T2	1194	23.53	47.82	0.75	2.60	1.68	23.62
	BRO_T3	1194	22.95	48.66	0.75	2.18	1.68	23.79
YES selection (V class)	ALP_T0	1146	16.06	62.83	8.64	0.79	1.05	10.65
	ALP_T1	1250	16.56	62.80	8.72	0.72	0.96	10.24
	ALP_T2	1250	16.56	62.16	9.20	0.72	1.12	10.24
	ALP_T3	1250	16.40	61.92	9.60	0.96	1.28	9.84
	BRO_T0	1094	23.86	49.09	0.91	2.83	1.65	21.66
	BRO_T1	1194	23.37	49.75	0.84	3.35	1.76	20.94
	BRO_T2	1194	23.87	49.25	0.92	3.27	2.26	20.44
	BRO_T3	1194	24.54	49.83	0.84	3.10	1.93	19.77
YES selection (IV and V class)	ALP_T0	1146	16.14	63.35	8.73	0.79	0.87	10.12
	ALP_T1	1250	15.92	63.68	9.28	0.64	0.80	9.68
	ALP_T2	1250	16.24	63.20	9.44	0.56	0.88	9.68
	ALP_T3	1250	16.48	63.04	9.12	0.64	0.80	9.92
	BRO_T0	1094	23.40	50.91	0.91	2.93	1.28	20.57
	BRO_T1	1194	24.12	52.35	0.84	3.02	1.17	18.51
	BRO_T2	1194	24.62	51.84	0.84	2.85	1.34	18.51
	BRO_T3	1194	25.04	52.18	0.75	3.02	1.17	17.84

Legend: ALP = Alpagota; BRO = Brogna; T0, T1, T2 and T3 = Time year 0, 1, 2 and 3, respectively.

Figure 3. Differences % frequencies alleles in the population by NO selection and Yes selection class V and class IV and V.



EVALUATION OF EFFECTS IN A POSSIBLE SELECTION FOR THE ERADICATION OF SCRAPIE IN LOCAL SHEEP BREEDS

INTRODUCTION

Scrapie is a fatal neurodegenerative disease belonging to the group of transmissible spongiform encephalopathies, affecting sheep and goats. It has been shown that the susceptibility or resistance of sheep to scrapie is influenced by mutation in the codons 136, 154 and 171 of the third exon of the prion protein (*PrP*) gene (*PRNP*) (Hunter, 1997). It is generally accepted that mutations coding for alanine at codon 136 (A₁₃₆) and for arginine at codon 171 (R₁₇₁) confer higher resistance, while those coding for valine (V₁₃₆) and glutamine (Q₁₇₁) render animals more susceptible to scrapie; polymorphisms in codon 154 are considered to have minor importance (Hunter, 1997; Elsen *et al.*, 1999). In the light of this scientific evidence, the European Union classified the genotypes at these three codons in five classes from highly resistant (R1) to highly sensitive (R5) and established that breeding programmes aiming at decreasing scrapie susceptibility should be implemented in all European sheep breeds (EC, 2003). To achieve such goal breeding scheme must increase the frequency of the ARR/ARR genotype and eradicate completely the VRQ allele. However, application of these kind of schemes could be dangerous in many local breeds facing extinction as the available genetic variability will be reduced affecting conservation programmes as observed by several authors (Alfonso *et al.*, 2006; Álvarez *et al.*, 2006; Van Kaam *et al.*, 2008). The analysis of genetic variability and the estimation of its possible loss could be assessed using different criteria mainly based on pedigree information, anyway in sheep breeding and especially in small local populations, pedigree information are often unknown (Goyache *et al.*, 2003); in this case the use of molecular markers to evaluate molecular diversity could be a valuable alternative (Alfonso *et al.*, 2006; Álvarez *et al.*, 2006).

This paper is presented as the third in chronological order in this thesis, as it becomes the direct continuation of the first two contributions. In fact, in order of investigation, after the genetic characterization of the studied breeds, it was decided to academic study to simulate a possible selection as a direct response to the problem of Scrapie (Hunter, 1997, EC, 2003, Alfonso *et al.*, 2006, Mann *et al.*, 2007; Van Kaam *et al.*, 2008). However, some questions have arisen:

- "What would happen if there was in fact the direct removal of individuals at risk

from scrapie plan selection, and then the real population?" - "Is possible to assume a descriptive framework of the actual population at time zero?".

So, the aim of this work is to genotype four local Italian sheep breeds at the *PrP* gene to investigate scrapie susceptibility. The breeds are Alpagota (ALP), Brogna (BRO), Foza (FOZ) and Lamon (LAM), they are reared in north-east Italy and nowadays they can be considered meat type. Their importance is due to their possibility to exploit marginal areas and to the production of typical products of economic interest in niche markets. At present they are considered as endangered and are part of a conservation programme but no data on their susceptibility to scrapie are available. Moreover, as a complete pedigree was absent, the investigated breeds were genotyped at 17 microsatellite loci to assess their genetic variability and to evaluate the possible variability loss if selection against sensitive genotypes will be carried out.

MATERIALS AND METHODS

For specifications regarding the description of the species under study, methods of genetic analysis for amplification and genotyping using microsatellite markers, please refer to the First contribution of this thesis entitled "**Inference on population structure of Veneto local sheep breeds using microsatellites**" (Bondesan *et al.*, 2011; Tormen *et al.*, 2011).

Animal Sampling

A total of 394 individual blood samples were collected from the 4 sheep breeds involved in the study: ALP (Alpagota breed, n=110), BRO (Brogna breed, n=186), FOZ (Foza breed, n=54) and LAM (Lamon breed, n=43). Samples from ALP, BRO, FOZ, and LAM were collected on the experimental farms and in the conventional farms where they are maintained according to an *in situ* conservation program. All of the animals present in the conservation nucleus were sampled to estimate the degree of variability and the population structure of the conserved animals at the beginning of the conservation activities.

For each animal were added to *PrP* genotype information obtained from a project funded by Veneto Agricoltura, the Regional Agency for agriculture of the Veneto Region. Six alleles (haplotypes) of a *PrP* gene have been identified: AHQ, ARH, ARK, ARQ, ARR and VRQ.

Since the aim is to verify the sustainability of selection for the eradication of scrapie in the local breeds sheep of Veneto Region, 31 datasets were created. These compounds are ascending from the total of animals, and so on do not include animals of the different risk categories, both male and female. This is not a distinction is made because the resulting dataset should be representative of the population, or of what might happen if they were not included in the categories of animals. Are reported all the dataset analyzed, but due to the low abundance of some, these will not be discussed, as they are considered by the authors as an unrealistic assumption.

Statistical Analysis

Number of alleles per locus, allelic frequencies, and observed and expected heterozygosity were calculated using Genetix version 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 1996–2004). Exact tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (Guo and Thompson, 1992) were applied using a Markov Chain Monte Carlo simulation (1,000 batches, 10,000 iterations per batch, and a dememorization number of 10,000) as implemented in GENEPOP version 3.4 (Raymond and Rousset, 1995). A test for population differentiation was performed, as implemented in GENEPOP 3.4; for each locus, an unbiased estimate of Fisher's exact test was computed to verify if the allelic distribution was different among breeds. The Fstat 2.9.3 software (Goudet, 1995) was employed in calculations of allelic richness (an estimation of mean number of alleles per locus corrected by sample size), gene diversity (Nei, 1987), and estimation of Wright's fixation index (Weir and Cockerham, 1984). Molecular coancestry coefficients within and between breeds were measured according to Caballero and Toro (2002) using MolKin 3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005); to avoid bias, because of unequal sample sizes, 100 samples with exactly 50 individuals per breed were generated with a bootstrap procedure. To help set conservation priorities, Molkin 3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005) was used to quantify the

contribution of each analyzed population to the diversity of the whole data set using the method proposed by Caballero and Toro (2002).

RESULTS AND DISCUSSION

***PrP* gene genotyping**

Number of animal sampling by sex ratio and genotypic and allelic frequencies on the *PrP* gene in the four local sheep breeds are shown in Tables 1 e 2. The ARQ allele is the most represented, its frequency ranged from 73.18% in ALP to 55.45% in FOZ, the second most frequent allele, considering the overall population, is the highly resistant ARR (ranging from roughly 14.55% in FOZ to 24.42% in LAM). The VRQ allele, highly sensitive to scrapie, was detected in three breeds, ALP, LAM and BRO with a frequency of 5.45%, 13.95% and 18.28%, respectively. In the BRO but especially in the FOZ breed, the rare ARK allele was found, with a considerable frequency (0.27% and 16.36%, respectively). The most favourable genotype ARR/ARR was found in only breeds: the LAM with a rather high frequency (9.30%) and the FOZ with a much lower one (1.82%); while the most susceptible genotype VRQ/VRQ was evidenced just in the LAM breed with a frequency of 6.98%. In Table 2, the investigated breed are classified according to the risk classes assessed by the European Union, the RI class represents a very low risk while RV represents the greatest. In general, most of the animals are found in classes RIII, RIV and RV. The ALP breed presented the highest frequency of animals belonging to the RIV class (roughly 57.27%), while about one sixth of the LAM analyzed population is classified in the RV class to which, the highest scrapie susceptibility has been associated, but it has also the highest percentage of animals in the low risk class.

Genetic variability in the analyzed breeds

The genotyping of the animals (total samples 394, divided into 110 ALP, 186 BRO, 55 FOZ and 43 LAM; Table 3) at the 17 investigated loci permitted to detect a total number of 286 alleles, ranging from 11 (McM527 and MAF65) to 23 (CSRD247 and INRA063). The highest number of alleles per locus, weighted for sample size, was found in the BRO (13.588) while the lowest in LAM (9.588), as shown in Table 2.

The highest genetic variability was evidenced in LAM with an observed heterozygosity of 0.706, ALP resulted the breed owning the lowest variability (0.668). Every breed showed a highly significant ($p < 0.001^{***}$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium caused by a lack of heterozigotes and rather high F_{IS} estimates (Table 3).

Assuming that the animals of class V and then those of class IV and V together are first completely eradicated, there is a change in wealth expressed by the total number of alleles, which are reduced considering only animals passing classes I-II-III - IV to 279 (-7), while the average number of alleles is dramatically reduced (Table 3 and 4) from the total sample of the population, to the sample without the class V, to that without the class IV and V; the loss is greater has in BRO, which passes from an average number of alleles of 13.599, to 12.882 up to 10.421 (-25.27% and -75.81%, respectively).

The variability given by heterozygosity expected is lowered only for Lamon (-1.12%) and ALP (-0.6%) in the case of class V removed, but in the later case, with the removal of classes IV and V together, decreases for LAm, FOZ and BRO (-5.95%, -2.06% and -0.84%, respectively), while generally increases the heterozygosity observed.

The value that undergoes major percentage changes from the reference data is to be Allelic Richness, leaking from 3.83% to 6.29% in class V be exempted from the dataset, and well between 26.90% and 29.58% by removing both the Class IV the V, with the highest values reported to the breeds ALP and BRO; these values, however, are probably due to the reduction in the number of subjects in the different classes / populations.

CONCLUSIONS

The selection of breeding sheep for the purpose of genetic improvement to reduce susceptibility to scrapie, although with the current legislation is not mandatory in Italy for animals enrolled in R.A., is a highly topical subject. In fact, especially in the population with reduced number and with a low degree of differentiation inside, the loss of even a few subjects may also significantly reduce the variability of the inner breed. In the assumptions of this work has not been

considered important suppose if such losses were associated with a clinical event or selection, but just consider the fact that, in the real world, available the data with respect to the genetic characterization of Veneto sheep breeds (Alpagota, Brogna , Foza and Lamon) were exposed in the first contribution of this thesis. The aim was to simulate with the real deemed available data, representative of the situation of the population, what would happen if they were excluded on time before all subjects (without distinction of sex) falling in class V, and then all the IV and V class subjects together.

From the results obtained it was possible to show how it has been generally declining bred biodiversity, and this has happened due to the reduction in the number of animals and the exclusion of alleles from the population

TABLES AND FIGURES

Table 1. Allelic frequencies on the *PrP* gene in the four local sheep breeds. Legend: ALP=Alpagota, BRO=Brogna, FOZ=Foza and LAM=Lamon.

Allele	% allelic frequency <i>PrP</i> gene by Breed			
	ALP	BRO	FOZ	LAM
ARR	17.73	16.13	14.55	24.42
AHQ	3.18	0.54	10.91	0.00
ARK	0.00	0.27	16.36	0.00
ARQ	73.18	58.60	55.45	56.98
ARH	0.45	6.18	2.73	4.65
VRQ	5.45	18.28	0.00	13.95

Table 2. Genotypic on the *PrP* gene in the four local sheep breeds.

Legend: ALP=Alpagota, BRO=Brojna, FOZ=Foza and LAM=Lamon; F=♀, M=♂; n=number.

Risk class	Haplotype Scrapie	Sex and Total (n and %) by Breeds																Total n
		ALP				BRO				FOZ				LAM				
		F	M	Total		F	M	Total		F	M	Total		F	M	Total		
				n	%			n	%			n	%			n	%	
I	ARRARR	0	3	3	2.73	2	2	4	2.15	0	1	1	1.82	2	2	4	9.30	12
II	AHQAHQ	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	1	0	1	1.82	0	0	0	0.00	1
	ARRAHQ	0	2	2	1.82	0	0	0	0.00	1	0	1	1.82	0	0	0	0.00	3
III	AHQARH	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	1	1	1.82	0	0	0	0.00	1
	AHQARK	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	2	2	3.64	0	0	0	0.00	2
	ARKAHQ	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	1	1	1.82	0	0	0	0.00	1
	ARKARQ	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	2	2	3.64	0	0	0	0.00	2
	ARQAHQ	3	2	5	4.55	2	0	2	1.08	2	1	3	5.45	0	0	0	0.00	10
	ARQARK	0	0	0	0.00	0	1	1	0.54	3	7	10	18.18	0	0	0	0.00	11
	ARRARH	0	1	1	0.91	1	1	2	1.08	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	3
	ARRARK	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	3	3	5.45	0	0	0	0.00	3
	ARRARQ	4	24	28	25.45	24	12	36	19.35	4	6	10	18.18	2	9	11	25.58	85
IV	ARHARH	0	0	0	0.00	2	0	2	1.08	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	2
	ARQARH	0	0	0	0.00	9	3	12	6.45	1	1	2	3.64	0	4	4	9.30	18
	ARQARQ	26	35	61	55.45	46	20	66	35.48	8	10	18	32.73	0	15	15	34.88	160
	ARRVRQ	1	1	2	1.82	10	4	14	7.53	0	0	0	0.00	0	2	2	4.65	18
V	ARHVRQ	0	0	0	0.00	2	3	5	2.69	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	5
	ARQVRQ	2	4	6	5.45	23	12	35	18.82	0	0	0	0.00	1	3	4	9.30	45
	VRQVRQ	2	0	2	1.82	3	4	7	3.76	0	0	0	0.00	1	2	3	6.98	12
I	Total (for each class risk)	0	3	3	2.73	2	2	4	2.15	0	1	1	1.82	2	2	4	9.30	12
II		0	2	2	1.82			0	0.00	2	0	2	3.64	0	0	0	0.00	4
III		7	27	34	30.91	27	14	41	22.04	9	23	32	58.18	2	9	11	25.58	118
IV		27	36	63	57.27	67	27	94	50.54	9	11	20	36.36	0	21	21	48.84	198
V		4	4	8	7.27	28	19	47	25.27	0	0	0	0.00	2	5	7	16.28	62
Total (n)		38	72	110		124	62	186		20	35	55		6	37	43		394

Table 3. Results of the genotypic analysis.

Risk class		Breed	n total	Results of the analysis based on the parameters considered															
Removed	Analyzed			n	K	AR	H.exp	±	SD	H.obs	±	SD	Fij	±	SD	FIS	p	GD	Loss/Gain
IV-V	I-II-III	ALP	134	39	8,824	6,556	0,746	±	0,120	0,663	±	0,190	0,254	±	0,039	0,119	***	0,805	0,234
		BRO		45	10,412	7,033	0,782	±	0,062	0,711	±	0,114	0,223	±	0,029	0,087	***	0,793	-1,236
		FOZ		35	8,588	6,672	0,761	±	0,091	0,713	±	0,144	0,252	±	0,052	0,063	***	0,791	-1,466
		LAM		15	7,000	6,629	0,738	±	0,107	0,742	±	0,206	0,260	±	0,031	-0,010	***	0,800	-0,362
V	I-II-III-IV	ALP	332	102	11,000	8,446	0,740	±	0,139	0,676	±	0,183	0,264	±	0,040	0,095	***	0,804	0,972
		BRO		139	12,882	9,505	0,791	±	0,076	0,713	±	0,095	0,219	±	0,028	0,089	***	0,788	-1,032
		FOZ		55	9,765	8,777	0,777	±	0,097	0,706	±	0,153	0,232	±	0,042	0,089	***	0,787	-1,276
		LAM		36	9,176	8,931	0,776	±	0,089	0,690	±	0,150	0,228	±	0,037	0,111	***	0,792	-0,546
None	I-II-III-IV-V	ALP	394	110	11,353	9,013	0,745	±	0,128	0,668	±	0,174	0,261	±	0,040	0,110	***	0,802	0,627
		BRO		186	13,588	9,987	0,788	±	0,078	0,701	±	0,095	0,221	±	0,028	0,100	***	0,791	-0,773
		FOZ		55	9,765	9,127	0,777	±	0,097	0,706	±	0,153	0,232	±	0,042	0,089	***	0,788	-1,078
		LAM		43	9,588	9,379	0,785	±	0,078	0,697	±	0,148	0,219	±	0,035	0,111	***	0,792	-0,613

Table 4. Results of the genotypic analysis: variation % to respect total breeds.

Risk class		Breed	n total	Results of the analysis based on the parameters considered - Variation % to respect total breeds (table 3)														
Removed	Analyzed			n	K	AR	H.exp	±	SD	H.obs	±	SD	Fij	±	SD	FIS	GD	Loss/Gain
IV-V	I-II-III	ALP	134	-64.55	-22.28	-27.27	0.21	±	-6.23	-0.70	±	8.78	-2.82	±	-0.99	8.20	0.31	-62.65
		BRO		-75.81	-23.38	-29.58	-0.84	±	-20.69	1.40	±	19.39	0.79	±	1.70	-13.52	0.23	59.81
		FOZ		-36.36	-12.05	-26.90	-2.06	±	-6.26	0.95	±	-5.95	8.57	±	22.77	-29.36	0.31	35.93
		LAM		-65.12	-26.99	-29.32	-5.95	±	37.26	6.38	±	39.35	18.53	±	-11.78	-108.88	0.96	-41.00
V	I-II-III-IV	ALP	332	-7.27	-3.11	-6.29	-0.60	±	7.87	1.24	±	5.05	1.36	±	1.20	-13.51	0.30	55.07
		BRO		-25.27	-5.19	-4.83	0.32	±	-2.31	1.70	±	-0.21	-1.05	±	-1.93	-11.65	-0.30	33.44
		FOZ		0.00	0.00	-3.83	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	-0.24	18.33
		LAM		-16.28	-4.29	-4.78	-1.12	±	13.70	-1.09	±	1.62	3.86	±	4.54	0.31	0.03	-11.03

THE TRICHOLOGICAL ANALYSIS IN THE STUDY OF LOCAL SHEEP BREEDS

Parte dei risultati esposti sono stati presentati nel seguente lavoro:

*Tormen, N., (2011.) **The trichological analysis in the study of local sheep breeds**
Ital. J. Anim. Sci., vol.10 : supp. 1, p. 37*

INTRODUZIONE

Il pelo

I peli sono presenti su tutto il corpo fatta eccezione delle giunzioni mucocutanee, dei cuscinetti digitali e dei capezzoli in alcune specie. L'insieme dei peli produce il *vello* in ovini e caprini, mentre costituisce il *mantello* per quanto riguarda gli equini, i bovini, i suini, i carnivori, i roditori e i soricomorfi.

I peli sono strutture cheratinizzate più o meno lunghe e flessibili, prodotte dai follicoli piliferi (invaginazioni dell'epidermide). Durante la loro crescita presentano una dilatazione terminale che prende il nome di bulbo pilifero, alla cui base si può osservare una papilla dermica. Le cellule epidermiche della papilla dermica danno origine alla radice del pelo: questa continua con il fusto che fuoriesce dalla superficie cutanea, chiamata colletto. Da qui fuoriescono anche i dotti escretori della ghiandola sudoripara e di quella sebacea. Quest'ultima prende origine nella parte superiore del follicolo e il suo ruolo è quello di secernere il sebo, un liquido oleoso e ceroso che lubrifica, deterge e impermeabilizza il pelo. Nella parte inferiore del follicolo, invece, troviamo fasci di cellule muscolari lisce che lo connettono con lo strato papillare del derma e formano il muscolo erettore del pelo.

I peli possono essere di diversi tipi, in particolare si possono distinguere:

- ✓ *peli della giarra*; sono i più comuni e costituiscono la parte fondamentale del mantello;
- ✓ *peli lanosi o della lanuggine*; sono profondi, più fini e corti, formano la *lana* propriamente detta.

Il pelo della giarra prende origine da un follicolo largo e che si trova in profondità nel derma, detto per questo follicolo primario, dotato di muscolo erettore e di ghiandole sudoripara e sebacea. Il pelo della lanuggine, invece, è prodotto da un follicolo detto secondario perché più superficiale, stretto, sprovvisto di muscolo erettore, di ghiandola sudoripara e, qualche volta, anche di ghiandola sebacea. I follicoli secondari circondano un follicolo primario in numero variabile a seconda delle specie. Gli ovini e i carnivori presentano follicoli complessi: da un follicolo primario si sono formati dei follicoli accessori per

gemmazione e, in questo modo, da un unico colletto fuoriesce un ciuffo di peli (Bortolami *et al.*, 2000).

In generale, è possibile asserire che nei mammiferi siano presenti diversi tipi di peli, alcuni con funzione prettamente sensoriale quali le vibrisse, altri con funzione meccanico-difensiva, come le setole e il pelo primario, mentre alcuni uniscono anche la funzione termoregolatrice indiretta, come il sottopelo.

Le vibrisse hanno struttura simile in tutte le specie, hanno generalmente sezione circolare e sono gli unici peli ad avere diametro che si restringe gradatamente ma continuamente dalla radice alla punta (Stravisi, 2007). Non sono utili nell'identificazione specifica, perché sono scarsamente differenziati tra le specie (Debrot, 1982).

Il pelo primario (Figure 1 e 2) o giarra (GH) è lungo e rigido e ha diametro maggiore nella sua parte distale (verso la punta). Tale zona di massimo spessore è definita scudo (*Shield*). La parte corrispondente al terzo basale viene definita stelo (*Shaft*). Un pelo è formato da tre strati concentrici, dall'esterno verso l'interno: la cuticola, il cortex e la medulla (Figura 3). Tutte le strutture possono variare:

- ✓ nello stesso soggetto, sia tra tipo di pelo, sia nello stesso tipo di pelo
- ✓ dalla posizione relativa nella pelliccia (sia su parti diverse del corpo dell'animale che, considerando lo stesso punto, dall'esterno verso la cute), sia nel singolo pelo tra zona di *Shield*, *Shaft* e nel passaggio intermedio.

Poiché in questo lavoro si prende in considerazione la struttura cuticolare, si tralasciano le descrittive delle altre tipologie e si tratta della cuticola, la quale è identificabile come lo strato più esterno del pelo ed è formata dalla sovrapposizione di scaglie trasparenti di cheratina. La variazione di forma e dimensione delle scaglie lungo l'asse del pelo può essere più o meno graduale e nelle diverse zone possono presentarsi tipi anche molto diversi. Generalmente il disegno cuticolare è di difficile osservazione da un preparato in trasparenza, in quanto viene coperto dalle strutture e dai pigmenti interni del pelo. Pertanto quello che si osserva è l'impronta cuticolare, cioè il disegno cuticolare impresso su gelatina o altro supporto analogo (Stravisi, 2007). Le tipologie e le classificazioni adottate nella distinzione delle forme cuticolari, si rifanno in questo studio a Teerink (1991), come esposto in Figura 1.

Analisi micro-morfometrica

Il pelo è un campione organico spesso campionabile su animale vivo o reperibile da varia origine a basso costo che, nella sua porzione distale, permette, se presente il bulbo pilifero ed in relazione alle dimensioni fisiche di quest'ultimo, di ottenere una fonte di materiale genetico utilizzabile nel monitoraggio (Waits *et al.*, 2005). Oltre a questo, però, consente anche l'applicazione di diverse tecniche d'indagine sul benessere degli animali, quale la tipica valutazione dello stress mediante la quantificazione del cortisolo, l'utilizzo di biomarkers da accumulo, la ricerca di metalli pesanti (Watanabe *et al.*, 1996; Patrashkov *et al.*, 2003) e di isotopi stabili per la valutazione della dieta (Dalerum, 2005; Greenleaf & Wright, 2005; Mikuzami *et al.*, 2005). Un approccio propriamente morfometrico, invece, legato all'analisi della struttura del pelo, viene indicato quale sistema a basso costo e coadiuvante delle indagini genetiche per la distinzione delle famiglie, dei generi, delle specie e a volte anche delle sottospecie e delle razze (Keller, 1992; Ciucci & Reggioni, 2003; Stravisi, 2007; Backwell *et al.*, 2009; Sahajpal *et al.*, 2009). Per la determinazione delle specie sono disponibili in letteratura diverse chiavi dicotomiche, tra cui le principali adottate in questo lavoro sono riferite a Debrot (1982) e Teerink (1991); altre sono specifiche per la determinazione della famiglia o di gruppi tassonomici (Keller, 1984; Keller, 1992), oppure ancora sono relative a definite aree geografiche (Keller, 1978; Keller, 1980; Toth, 2002). Le chiavi dicotomiche disponibili sono basate su aspetti sia quantitativi (spessori, lunghezze) che qualitativi (forme, disposizioni) della morfologia del pelo e spesso non tengono conto solo di specie cosmopolite, ma sono legate alle specificità derivate dalla differenziazione delle razze in relazione alla regione biogeografia di diffusione e necessitano di interpretazione specifica da parte di personale esperto e perfettamente formato nel riconoscimento delle forme osservabili nella struttura, poiché, ad esempio, alcune volte le forme intermedie di cuticola, medulla o sezione trasversale del pelo sono difficilmente assegnabili ad un tipo in modo inequivocabile (Weeks & Gaston, 1997). Oltre a ciò, molti autori utilizzano nomenclature diverse per descrivere la forma e la struttura della cuticola. Oltre all'analisi diretta da parte dell'operatore, negli ultimi 20 anni si è assistito all'avvento della fotografia digitale e al suo sempre maggior impiego nei diversi

campi delle discipline scientifiche; questo è stato possibile grazie soprattutto all'inversione di tendenza tra l'abbassamento dei costi per la strumentazione e il parallelo aumento della resa, con conseguente crescita di affidabilità in termini di alta risoluzione d'immagine

Ad esempio, a livello di studio cellulare, la microscopia elettronica è ampiamente diffusa oggi (Proffitt, 1996; Rizzuto, 1998; Burthem, 2005; Hutchinson, 2005). Questo porta ad una nuova tipologia di lavoro che permette di abbinare l'osservazione ad un documento archiviabile, riesaminabile e confrontabile con altri, dal quale è possibile eliminare artefatti ed elementi di disturbo (Weeks & Gaston, 1997). Le analisi e le misurazioni nei vari settori sono facilitate dalla possibilità di lavoro a video e dall'introduzione di software gestionali che salvano direttamente i dati in formato digitale, fornendo ad una fotografia digitale un corredo di metadati univoci che riducono l'errore di trascrizione delle misure prese a mano (Bayer *et al.*, 2001). Con la "morfometria geometrica" (Adams *et al.*, 2004), già dagli anni '80 del secolo scorso, l'uso delle immagini digitali di preparati microscopici comincia ad essere utilizzato anche a scopi tassonomici (Sheath, 1989; Valdecasas *et al.*, 1997; Weeks & Gaston, 1997; Bayer, 2001, Du Buf *et al.*, 1999). Da immagini utilizzate principalmente a scopo esplicativo e di corollario a documentazione scientifica, si è passati ad un loro utilizzo mediante valutazione di caratteristiche specifiche (Sheath, 1989) e alla misurazione di parametri statistici che descrivano tali caratteri e le relazioni che intercorrono tra questi (Valentin *et al.*, 1994).

In quest'ottica, obiettivo del presente studio è proprio quello di valutare se le caratteristiche micro-morfometriche peculiari di campioni di vello esistano almeno nei campioni analizzati e se queste siano rilevabili con un metodo di analisi microscopica associato ad *image analysis*.

MATERIALI E METODI

Prelievo e preparazione del campione

L'analisi morfometrica proposta in questo lavoro ha visto lo studio delle caratteristiche cuticolari del vello di 5 razze ovine autoctone, di cui 4 a limitata diffusione iscritte a R.A. (Alpagota, Brogna, Foza e Lamon) e 1 iscritta a L.G.

(Appenninica). Per le prime 4 razze (Figura 4), i soggetti derivano da un unico allevamento (Azienda Sperimentale per la Montagna "Villiago") di proprietà dell'Ente Regionale "Veneto Agricoltura - Azienda Regionale per i settori Agricolo, Forestale e Agro-Alimentare", sito in Comune di Sedico (BL), mentre per la razza Appenninica (Figura 4) sono stati campionati 3 allevamenti: "Cooperativa Agricola Montemercole" ad Anghiari (AR), "Catia Chimenti" a Monte Santa Maria Tiberina (PG) e "Costantini Luigi" a Siena.

Sono state campionati 3 soggetti di razza femmina per ciascuna razza, scelti casualmente e non imparentati tra loro, mediante estrazione manuale di ciuffi di vello dalla zona interscapolare (Figura 5). I singoli ciuffi di pelo, derivanti da ogni campione, sono stati mantenuti separati e conservati per un tempo utile (4 mesi) in buste di carta per limitare l'assorbimento di umidità. Da ciascun campione iniziale si è provveduto ad estrarre in modo casuale 6 peli, i quali sono stati preparati e montati su vetrino secondo la metodologia di Terrink (1991) modificata da Skraba (2003) e successivamente da Tormen (2011), in cui l'impronta della superficie cuticolare viene impressa su vetrino porta oggetto grazie al contatto del pelo con un sottile strato di smalto trasparente presente sul vetrino stesso, ed alla sua successiva rimozione, fornendo, quindi un calco negativo. Particolare importante è stata la pulizia pre-calco dei campioni piliferi, eseguita con acqua e detergente per sostanze grasse, al fine di eliminare le componenti oleose (date principalmente dalla lanolina) e le impurità della superficie pilifera e dermica. Tutte le sezioni sono state preparate nel medesimo laboratorio ed analizzate nella stessa giornata (rispettivamente), al fine di uniformare le condizioni di umidità e temperatura ambientale ed evitare, così, deformazioni seppur lievi delle superfici che avrebbero inficiato la confrontabilità dei dati ottenuti.

Analisi microscopica e acquisizione dei dati morfometrici digitali

Le sezioni di pelo con i calchi delle strutture superficiali sono state studiate ed acquisite digitalmente senza distorsioni mediante un *microscopio ottico Leica DMR* con oculare 10.0x ed obiettivi 20.0x e 40.0x, a luce trasmessa senza interposizione di filtri. Le immagini digitali ad alta qualità (risoluzione 2048x1536 pixel) delle sezioni individuate sono state conseguite con l'uso di una fotocamera

digitale (Leica DFC480®) e con l'ausilio di un software di acquisizione (Leica IM500 Image Manager®) dedicati e calibrati per una corrispondenza d'analisi bidimensionale. I file derivanti, grazie al corredo di metadati allegato e alla possibilità di risalire agli stessi, sono stati analizzati tramite un software free di *image analysis*, *ImageJ*, creato da Rasband (ImageJ, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsbweb.nih.gov/ij>). Le immagini possono essere trasformate in tonalità di grigio, per eliminare l'effetto del colore, spesso determinato da un artefatto. In particolare per le impronte cuticolari (Figura 6) è rilevante che il contorno delle singole scaglie sia ben definito, in modo da rendere possibili le successive elaborazioni d'immagine (Figura 7). Il miglioramento dell'immagine, ove necessario, è quindi inteso solo come funzionale all'analisi, eliminando artefatti ed evidenziando strutture, più che finalizzato ad ottenere immagini più belle. (Bayer *et al.*, 2001). La nomenclatura ed il sistema di classificazione delle strutture adottato è quello proposto da Teerink (1991). Da ciascuna sezione in *Shaft* ed in *Shield* (sempre identificabili), si è provveduto a considerare una sub-area campione ideale (Figura 7) di campionamento, suddivisa in porzioni di larghezza fissa 50 μm , mantenute sempre costanti e la cui estensione maggiore, corrispondente all'asse verticale dell'area, è stata posta trasversale all'asse di maggior sviluppo della sezione del pelo. I pelo sono stati sempre orientati nel vetrino con la parte distale della punta verso la sinistra dell'operatore e le operazioni di rilevamento dei dati avvenivano sempre da sinistra verso destra. Per ogni struttura (forma cuticolare, scaglia) riconosciuta, di forma completa o parziale, si è provveduto, grazie al software *ImageJ*, a rilevare perimetro ed area in μm e μm^2 (rispettivamente), previa taratura del software. Tale scelta metodologica è stata dettata dal fatto che lo scopo del lavoro è testare un metodo di analisi morfometrico che possa limitare alcuni errori dovuti all'operatore, avendo come presupposto la creazione di preparati integri e l'acquisizione delle immagini a regola d'arte. Nel caso, un singolo operatore, posto di fronte all'azione di rilevamento dei dati, non deve curarsi di identificare con precisione le forme cuticolari esatte, ma deve limitarsi solo a rilevare tutte quelle che ricadono nell'area campione. Poiché i diametri dei peli analizzati sono compresi in un *range* estremamente ridotto dell'ordine di pochi micrometri, le

eventuali distorsioni, dovute all'analisi di una struttura 3D considerandola una superficie bidimensionale, sono state considerate trascurabili e uniformi per tutti i campioni.

Trattamento dei dati e analisi statistica

Considerando che l'obiettivo del lavoro non è quello di estrapolare delle inferenze rilevando direttamente le singole differenze dei campioni di pelo del vello (dati grezzi), ma quello di valutare se queste esistono attraverso un metodo di analisi micro-morfometrico, si è preferito per ogni serie di dati riferiti a Perimetro o Area di una scaglia di ciascun blocco di analisi (da 1 a 6) di ogni zona (*Shield* o *Shaft*) di ciascun pelo per ogni soggetto, creare 2 serie: una con valore medio, una con valore mediano. Partendo quindi dall'assunto che esistono delle relazioni metriche tra l'area ed il perimetro di una figura geometria (anche se non regolare) si è creato un nuovo valore derivato dal rapporto Area su Perimetro. I dati così ottenuti sono stati successivamente analizzati tramite il software SAS®: i dati grezzi sono stati esplorati con metodi di statistica non parametrica (Test di Kruskal-Wallis) e successivamente, previa verifica degli assunti di distribuzione normale delle popolazioni di dati ed omogeneità delle varianze, sono stati trattati mediante analisi della varianza con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller.

I modello lineare semplice utilizzato è:

$$N_{ijkl} = \mu + \text{breed}_i + \text{animal (breed)}_{ij} + \text{zone}_k + e_{ijkl}$$

dove:

- ✓ "breed" = razza considerata, con 5 livelli (Alpagota, Brogna, Foza, Lamon e Appenninica)
- ✓ "animal(breed)" = soggetto femmina analizzato, con 3 livelli e *nested* entro "breed"
- ✓ "zone" = zona considerata, con 2 livelli, corrispondenti a *Shield* e *Shaft*

Nei test il fattore "breed" è sempre stato testato sulla varianza d'errore del fattore "animal(breed)".

Il livello di significatività statistica è stato fissato:

- ✓ $p < 0.05^*$ = valore statisticamente significativo;
- ✓ $p < 0.01^{**}$ = valore statisticamente molto significativo;
- ✓ $p < 0.001^{***}$ = valore statisticamente altamente significativo.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Questo studio ha portato ad analizzare un totale di 15 soggetti femmine, appartenenti a 5 razze di ovini a limitata diffusione, di cui 4 autoctone della Regione Veneto (Alpagota, Brogna, Foza e Lamon) ed una di riferimento, la razza Appenninica.

Il numero complessivo dei dati ottenuti dall'*image analysis* è riferibile al numero di misurazioni di forme riconosciute e misurate all'interno delle aree campione (vedi Figura 7). I dati grezzi analizzati sono stati in totale 9023 (Tabella 1), di cui 4456 riferibili alla zona di *Shield* e 4567 alla zona di *Shaft*; i dati derivati, suddivisi nelle due serie date dal valore medio o mediano della sub-area considerata, si sono rivelati invece 1080 (Tabelle 1 e 2), di cui 540 riferibile alla zona di *Shield* e 540 alla zona di *Shaft*.

Poiché l'obiettivo del lavoro non è quello di stabilire inferenze sulle differenziazioni del vello delle razze ovine in oggetto di studio, ma semplicemente valutare se le differenze oggettive macroscopiche tra le tipologie di vello tra le razze esistano anche a livello microscopico e possano essere rilevate con questo metodo morfometrico di analisi, si discuteranno i dati grezzi solo in riferimento alla popolazione campionaria totale, mentre per i dati derivati si potranno fare delle considerazioni anche in relazione alla razza di appartenenza.

La scelta di derivare i dati di una sub-serie campione deriva dal fatto che considerando sia forme cuticolari integre che parziali (ma sempre riconoscibili) appartenenti a strutture o porzioni di struttura cuticolare, si ottiene un valore indice di riferimento che riduce molto l'errore dell'operatore, a cui viene pertanto richiesta solo una preparazione minima (le forme cuticolari sono sempre

riconoscibili dalle altre forme e dalle forme di interferenza o falsi positivi). In tale modo si ottiene una serie di 6 valori per ciascuna zona di riferimento (*Shield* o *Shaft*).

La scelta poi di un'area campione di ridotte estensioni (6 sub-aree per 50 μm di larghezza ad area = 30 μm) rispetto alla superficie dimensionale totale del pelo di pecora, in generale, ha permesso di avere la sicurezza di collocare l'area campione nelle zone esatte di *Shield* e *Shaft*; questo è stato determinato dal fatto che:

- le aree campione di *Shield* e *Shaft* nei peli di tipologia GH sono sempre riconoscibili osservando la sezione longitudinale del pelo (*Shield* area più larga nel terzo distale verso la punta, *Shield* area ridotta nel terzo prossimale al bulbo);
- i peli sono sempre orientabili, ovvero è possibile riconoscerne il verso (punta-radice) semplicemente osservando l'insieme delle caratteristiche cuticolari;
- all'interno della stessa zona (*Shield* o *Shaft*) le variazioni di strutture superficiali cuticolari sono meno frequenti rispetto al passaggio da una zona all'altra e le stesse strutture cuticolari si possono definire generalmente omogenee nella parte centrale dell'area.

Dai dati grezzi e dai dati derivati (Tabella 1) è possibile rilevare come, in generale, la serie campionari abbia un *range* estremamente vario, con valore minimo per Area e Perimetro paria a 9.14 μm^2 (*Shield*) e 14.89 μm (*Shaft*) (rispettivamente,) e valore massimo pari a 1163.64 μm^2 (*Shield*) e 212.79 μm (*Shaft*), sia per il valore mediano che per il valore medio.

Considerando l'indicazione data dal valore medio e dal valore mediano rilevato nella serie completa dei dati, in questo caso è possibile evidenziare come sia per i dati grezzi che per quelli trasformati, i valori maggiori riscontrati per la zona di *Shield* sono in generale maggiori di quelli rilevati per la zona di *Shaft*, a riprova del fatto che (considerando i dati grezzi) l'area di *Shield* sia maggiore di quella di *Shaft* e che (dai dati derivati) tale relazione è rispettata anche osservando il dato derivato. Dai dati di media e mediana riportati tabella 2, inoltre, è possibile osservare come, considerando la serie completa dei dati in *Shield* e *Shaft*, i valori delle serie suddivisi per razza decrescano dalle razze con evidente vello di dimensioni macroscopiche maggiori (Foza e Lamon) fino alle razze con vello di

dimensioni macroscopiche minori (Appenninica e Brogna), inteso come diametro funzionale medio della fibra. Tali differenze nelle serie di valori sono state riscontrate anche nei test esplorativi condotti con metodiche di statistica non parametrica (test di Kruskal-Wallis), in cui in tutti i possibili confronti si è sempre rilevato un valore p almeno statisticamente molto significativo che ha indotto sempre a rifiutare l'ipotesi H_0 in tutti i test.

Per quanto riguarda l'analisi mediante metodi di statistica parametrica, l'analisi della varianza ed i test *post-hoc* eseguiti hanno rilevato, generalmente, che esistono delle differenze, rilevabili con il metodo proposto, tra le zone di origine dei dati (*Shield* e *Shaft*) e tra le razze (Figure 8, 9, 10, 11, 12 e 13).

Considerando l'analisi della serie derivante da media, dalle figure 8, 9 e 10 è possibile rilevare come, dall'insieme set di valori e dai valori solo attribuibili alla zona di *Shaft*, emerga esistere delle differenze tra gli animali e tra le zone di *Shield* e *Shaft*, ma che, invece, le differenze tra le razze (testate sull'errore della varianza della variabile "animal(breed)" e con "animal(breed)" come fattore *random*), non siano significative. Diversamente, nel caso dell'analisi della sola serie di valori rilevati in *Shield*, anche la differenza tra le razze viene evidenziata, con raggruppamenti delle due razze con diametro della fibra minore (Brogna e Appenninica).

Nel caso dello studio, invece, della serie di valori derivanti dalla mediana, in ogni caso (*Shield*, *Shaft* e totalità dei dati) vengono rilevate delle differenze tra razze, zone di origine dei dati e animali campionati. Nel caso specifico, l' R^2 del modello aumenta passando dalla totalità dei dati, a *Shield*, a *Shaft* (46.1%, 67.9% e 72.1%, rispettivamente). Nel caso di *Shield* vengono confermati i risultati ottenuti con il *post-hoc* dell'analisi della serie precedente (medie), mentre nel caso di *Shaft*, in base al test utilizzato le razze si separano completamente, evidenziando così come forse sia maggiore la variabilità delle forme cuticolari in *Shield* nei campioni analizzati.

CONCLUSIONI

In conclusione è possibile affermare che le caratteristiche macro-morfometriche differenti tra i velli degli ovini analizzati si sono rilevate anche a livello micro-morfometrico, attraverso l'analisi con il metodo proposto.

Non è possibile estrarre delle inferenze tra le razze a livello generale, ma solo fare alcune considerazioni tra i campioni analizzati e quindi, di riflesso, anche tra i soggetti a cui appartengono ed alle relative razze, solo nel limite in cui si è ritenuto che i soggetti fossero rappresentativi dello standard di razza medio. Nel caso specifico, si è rilevato come i dati relativi all'area di *Shield* siano stati informativi in egual misura sia considerando una serie derivata da valori medi che da valori mediani e come, considerando i valori ottenuti dalla zona di *Shaft*, sia stato possibile separare tutte e cinque le razze, evidenziandone così le effettive differenze dovute probabilmente ad una elevata variabilità individuale che però si è dimostrata influire in maniera minore rispetto al livello di variabilità dovuta alla razza.

Sebbene sia auspicabile ingrandire il campione del dataset, introducendo nel piano sperimentale un maggior numero di allevamenti ed una rappresentativa ideale della *sex ratio*, i risultati ottenuti con questo metodo potrebbero essere di corollario alle indagini genetiche che generalmente oggi sono eseguite negli studi di razza. I vantaggi di tale sistema comparativo e di integrazione delle informazioni disponibili, se i futuri studi confermassero i risultati ottenuti, potrebbero essere impiegati non solo sugli studi diretti degli animali, ma anche in tecniche forensi (studi zoo-archeologici) o nell'industria del settore manifatturiero, quale sistema di controllo e/o autocontrollo dello standard di produzione e delle materie prime impiegate, con costi estremamente contenuti.

TABELLE E FIGURE

Tabella 1. Statistiche descrittive delle popolazioni di dati divise per zona.

Legenda: AREA= μm^2 ; PERIMETRO e AREA/PERIMETRO= μm ; Con "Dati trasformati" si intende la serie derivata dalla singola serie intra-blocco; SFSD=Shield+Shaft; SF=Shaft; SD=Shield.

Tutte le razze									
Zona	Serie	Variabile	n	min	max	media	media	DS	CV
SDSF	Dati grezzi	AREA	9023	9.14	1163.64	210.39	236.54	144.14	1.64
		PERIMETRO		14.89	212.79	69.55	71.71	25.65	2.80
		AREA/PERIMETRO		0.49	8.28	3.00	3.07	1.09	2.82
	Dati trasformati (media)	AREA	1080	84.83	580.13	236.77	243.29	66.60	3.65
		PERIMETRO		44.68	130.98	71.63	73.26	11.75	6.24
		AREA/PERIMETRO		1.80	4.70	3.26	3.28	0.51	6.45
	Dati trasformati (mediana)	AREA	1080	60.74	687.47	215.34	223.81	74.82	2.99
		PERIMETRO		38.92	141.04	70.91	71.46	12.56	5.69
		AREA/PERIMETRO		1.27	5.38	3.07	3.08	0.66	4.69
SD	Dati grezzi	AREA	4456	11.50	974.17	231.34	249.97	144.24	1.73
		PERIMETRO		14.89	212.79	71.79	73.97	25.68	2.88
		AREA/PERIMETRO		0.49	8.28	3.13	3.17	1.09	2.91
	Dati trasformati (media)	AREA	540	123.12	491.91	244.52	253.87	62.86	4.04
		PERIMETRO		48.78	113.96	73.98	75.12	11.14	6.74
		AREA/PERIMETRO		2.19	4.70	3.31	3.35	0.49	6.88
	Dati trasformati (mediana)	AREA	540	72.92	547.33	226.79	235.38	72.83	3.23
		PERIMETRO		42.24	112.75	72.61	73.24	11.68	6.27
		AREA/PERIMETRO		1.31	5.19	3.18	3.17	0.66	4.79
SF	Dati grezzi	AREA	4567	9.14	1163.64	193.14	223.44	142.83	1.56
		PERIMETRO		15.08	190.26	66.99	69.50	25.41	2.73
		AREA/PERIMETRO		0.51	7.30	2.88	2.97	1.07	2.76
	Dati trasformati (media)	AREA	540	84.83	580.13	227.12	232.71	68.53	3.40
		PERIMETRO		44.68	130.98	69.89	71.40	12.04	5.93
		AREA/PERIMETRO		1.80	4.67	3.20	3.21	0.52	6.18
	Dati trasformati (mediana)	AREA	540	60.74	687.47	203.22	212.24	75.00	2.83
		PERIMETRO		38.92	141.04	68.62	69.67	13.14	5.30
		AREA/PERIMETRO		1.27	5.38	2.96	2.99	0.64	4.68

Tabella 2. Statistiche descrittive delle popolazioni di dati derivati divise per razza
 Legenda: ALP=Alpagota, APP=Appenninica, BRO=Brogna, FOZ=Foza, LAM=Lamon; SFSD=Shield+Shaft; SF=Shaft; SD=Shield; "AREA/PERIMETRO"= μm .

AREA/PERIMETRO									
Razza	Serie di dati	Zona	n.	min.	max.	mediana	media	DS	CV
ALP	Dati trasformati (media)	SDSF	216	2.43	4.70	3.52	3.50	0.45	7.78
		SD	108	2.77	4.70	3.72	3.69	0.44	8.39
		SF	108	2.43	4.43	3.31	3.32	0.38	8.78
	Dati trasformati (mediana)	SDSF	216	1.64	4.99	3.25	3.24	0.59	5.53
		SD	108	2.20	4.99	3.49	3.50	0.56	6.29
		SF	108	1.64	4.13	2.95	2.98	0.50	6.02
APP	Dati trasformati (media)	SDSF	216	1.80	4.26	2.91	2.93	0.42	6.94
		SD	108	2.19	3.97	2.96	3.02	0.40	7.63
		SF	108	1.80	4.26	2.81	2.84	0.43	6.63
	Dati trasformati (mediana)	SDSF	216	1.38	4.50	2.73	2.75	0.57	4.80
		SD	108	1.66	4.09	2.88	2.86	0.57	5.06
		SF	108	1.38	4.50	2.55	2.64	0.56	4.72
BRO	Dati trasformati (media)	SDSF	216	1.82	4.34	3.09	3.08	0.36	8.52
		SD	108	2.36	4.34	3.09	3.06	0.39	7.86
		SF	108	1.82	4.03	3.09	3.10	0.33	9.39
	Dati trasformati (mediana)	SDSF	216	1.31	4.86	2.93	2.92	0.63	4.61
		SD	108	1.31	4.86	2.88	2.86	0.71	4.04
		SF	108	1.68	4.48	2.99	2.98	0.54	5.48
FOZ	Dati trasformati (media)	SDSF	216	1.90	4.57	3.58	3.46	0.56	6.13
		SD	108	2.98	4.57	3.68	3.68	0.35	10.45
		SF	108	1.90	4.48	3.47	3.24	0.65	5.02
	Dati trasformati (mediana)	SDSF	216	1.27	5.38	3.40	3.32	0.71	4.68
		SD	108	2.03	5.19	3.55	3.55	0.53	6.71
		SF	108	1.27	5.38	3.11	3.09	0.79	3.92
LAM	Dati trasformati (media)	SDSF	216	2.44	4.67	3.44	3.43	0.45	7.69
		SD	108	2.44	4.31	3.28	3.30	0.38	8.65
		SF	108	2.47	4.67	3.52	3.55	0.47	7.57
	Dati trasformati (mediana)	SDSF	216	1.48	4.88	3.17	3.16	0.59	5.34
		SD	108	1.48	4.48	3.08	3.08	0.57	5.39
		SF	108	1.69	4.88	3.21	3.24	0.60	5.40

Figura 1. Tipologie di pelo riscontrabile nei mammiferi: classificazione di Teerink (1991).

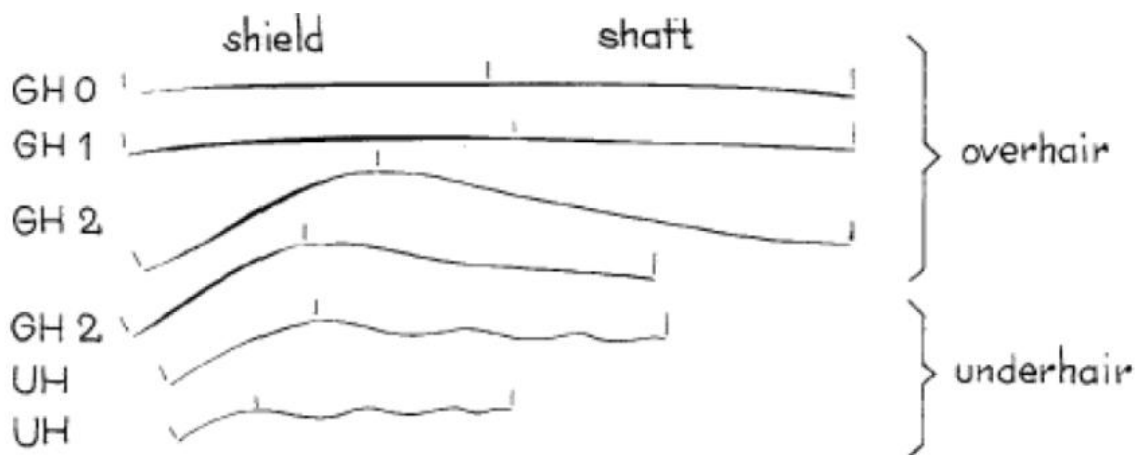


Figura 2. Sezione longitudinale della struttura di un pelo primario GH1.

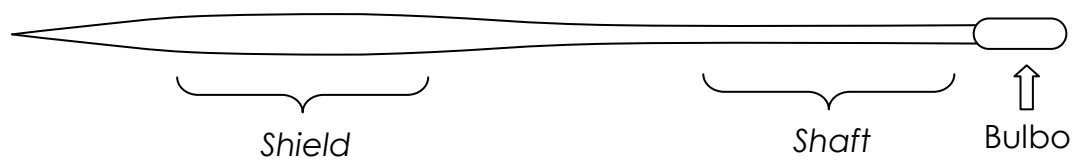


Figura 3. Sezione trasversale della struttura di un pelo primario GH1 secondo Teerink (1991).

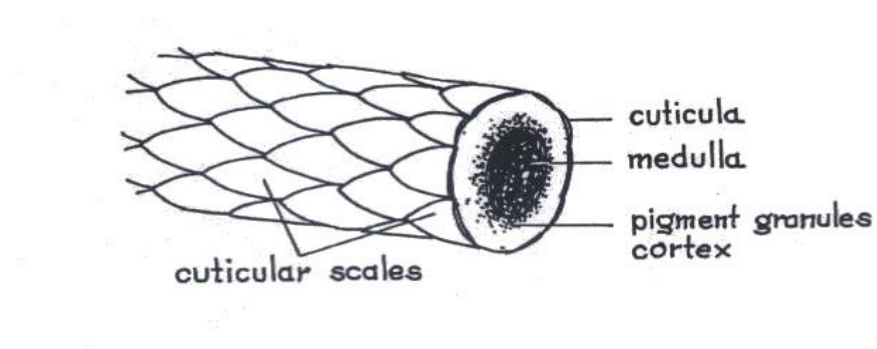


Figura 4. Soggetti di sesso femminile, razze Alpagota (A), Brogna (B), Lamon, (C), Foza (D) e Appenninica (E, fonte ASSONAPA, AA.VV. - 2002 - Le razze ovine e caprine in Italia, p. 17).



Figura 5. Particolare del vello e della zona di estrazione dei campioni di pelo da soggetti di razza Brogna.



Figura 6. Estratto della schermata del programma *ImageJ* in esecuzione.

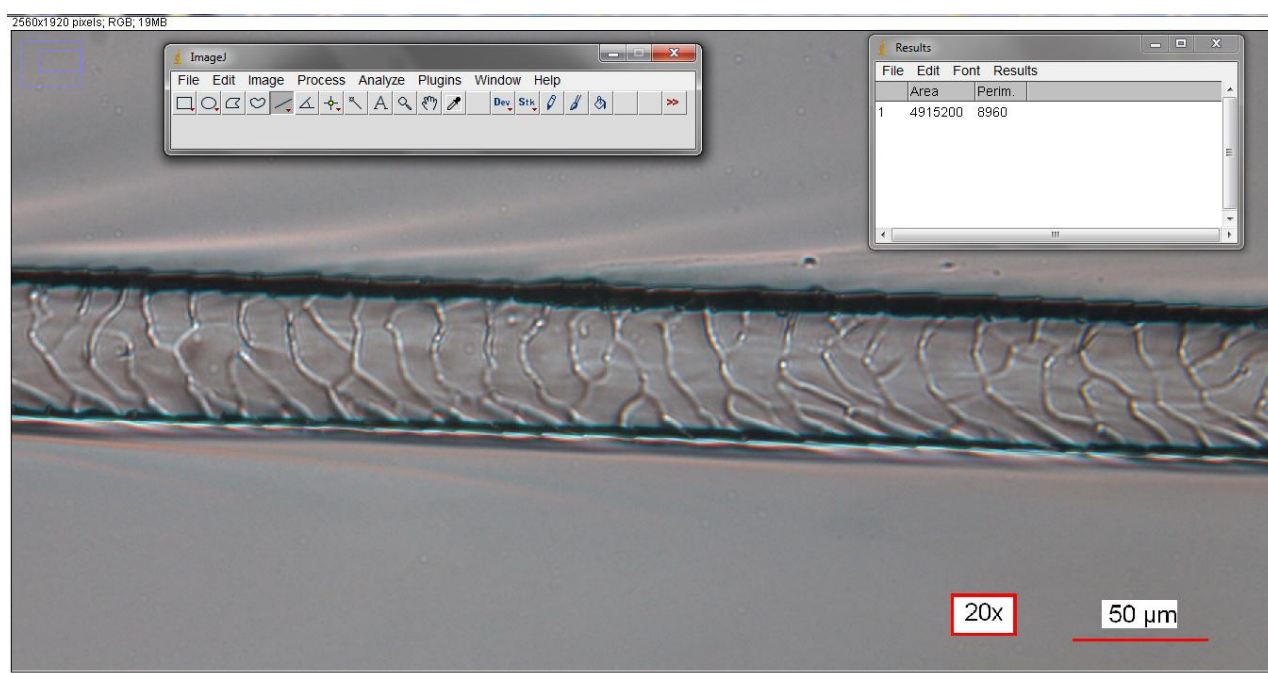


Figura 7. Elaborazione d'immagine, con struttura di rilevamento dati sperimentale (griglia verde) in cui sono create 6 superfici box consecutive di larghezza fissa 50 μm (aree campione). Con la freccia è evidenziata la superficie di una scaglia cuticolare analizzata di cui si rileva il perimetro e l'area.

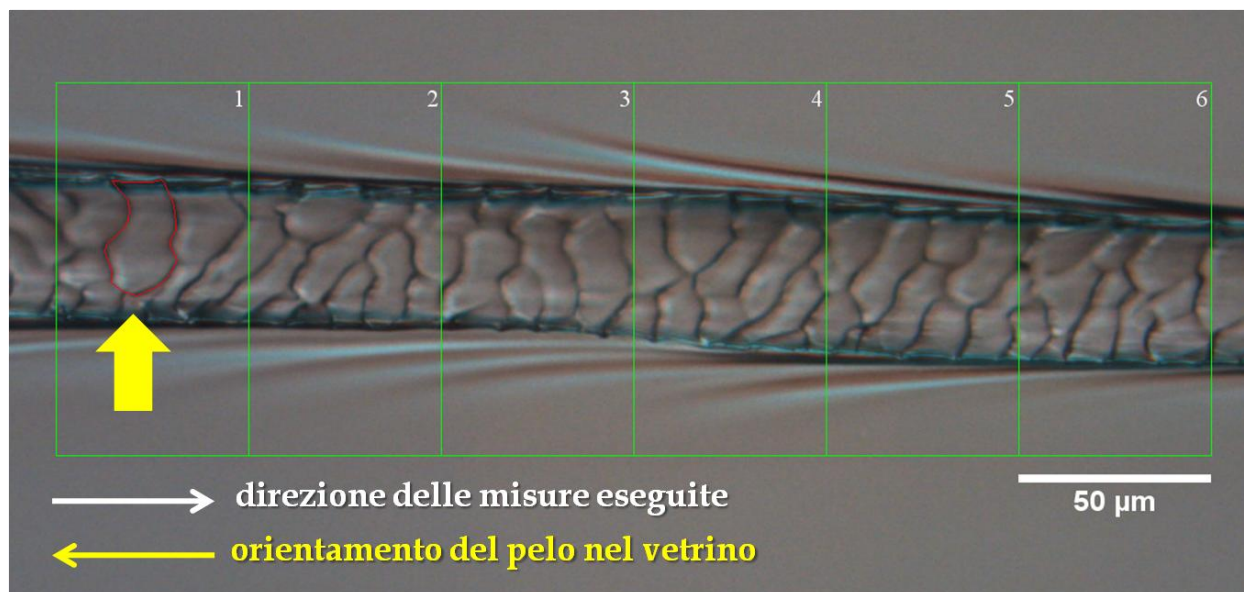


Figura 8. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di medie; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller per tutti i dati (*Shield* e *Shaft*) (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Model	15	111.315	7.421	49.95	<.0001	0.413
Error	1064	158.085	0.149			
Corrected total	1079	269.400				

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
breed*	4	53.513	13.378	2.62	n.s.
animal(breed)	10	50.971	5.097	34.31	<.0001
zone	1	6.832	6.832	45.98	<.0001

Duncan's Multiple Range Test		
Duncan	Mean N (μm)	zone
A	3.173	SD
B	3.013	SF

Figura 9. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di medie; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" per i dati in Shaft (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Model	14	80.627	5.759	49.95	<.0001	0.615
Error	525	50.398	0.096			
Corrected total	539	131.025				
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
breed*	4	23.128	5.782	1.01	n.s.	
animal(breed)	10	57.499	5.750	59.9	<.0001	

Figura 10. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di medie; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test post-hoc di Duncan-Waller per i dati in Shield (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Model	14	80.423	5.745	59	<.0001	0.611
Error	525	51.120	0.097			
Corrected total	539	131.543				
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
breed*	4	47.442	11.861	3.6	0.045	
animal(breed)	10	32.981	3.298	33.87	<.0001	
Waller-Duncan Test						
Raggrupp.	di Mean	N (µm)	breed			
A	3.52298		ALP			
A	3.51898		FOZ			
B	3.09145		LAM			
C	2.87829		APP			
C	2.85115		BRO			

Figura 11. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di 7mediane; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller per tutti i dati (*Shield* e *Shaft*) (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

Model	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Error	90	128.568	1.428	9.40	<.0001	0.461
Corrected total	989	150.378	0.152			
1079		278.946				
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
breed*	4	56.823	14.206	18.17	<.0001	
hair(breed)	85	66451	0.782	5.14	<.0001	
zone	1	5.295	5.295	34.82	<.0001	
Waller-Duncan Test						
Raggrupp. di	Mean N (µm)	Breed				
A	3.502	FOZ				
BA	3.456	ALP				
B	3.427	LAM				
C	3.078	BRO				
D	2.933	APP				

Figura 12. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di mediane; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller per i dati in *Shield* (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

Model	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Error	89	86.878	0.976	10.69	<.0001	0.679
Corrected total	450	41.092	0.0913			
539		127.969				
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
breed*	4	44.660	11.165	22.48	<.0001	
hair(breed)	85	42.217	0.497	5.44	<.0001	
Waller-Duncan Test						
Raggrupp.	di	Mean N (µm)	Breed			
A		3.687	FOZ			
A		3.675	ALP			
B		3.302	LAM			
C		3.058	BRO			
C		3.024	APP			

Figura 13. Risultati dell'analisi della varianza per i dati derivati: serie dei dati di mediane; analisi con procedura "Proc GLM SAS® version 9.2" e test *post-hoc* di Duncan-Waller per i dati in *Shift* (* the variable "breed" is tested on "hair(breed)" variance as Error).

Model	DF	Sum of Square	Mean Square	F value	Pr > F	R ²
Error	450	40.635	0.090			
Corrected total	539	145.681				
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
breed*	4	29.852	7.463	8.44	<.0001	
hair(breed)	85	75.194	0.885	9.80	<.0001	
Waller-Duncan Test						
Raggrupp.	di	Mean N (µm)	Breed			
A		3.552	LAM			
B		3.317	ALP			
C		3.237	FOZ			
D		3.098	BRO			
E		2.843	APP			

CONCLUSIONI GENERALI

Scopo di questa tesi è stato quello di contribuire alla conoscenza dello stato di conservazione di valorizzazione delle risorse genetiche animali autoctone della Regione Veneto, in quanto la ricerca è stata finanziata in parte da una borsa di studio regionale a tema vincolato.

Attraverso quattro approcci progressivi e complementari, riportati in quattro contributi, è stato possibile aumentare lo *status* delle informazioni riguardo la caratterizzazione genetica delle razze Alpagota, Brogna, Foza e Lamon, grazie soprattutto al maggior numero di soggetti genotipizzati con marcatori microsatellite (panel di 17 microsatelliti), rispetto ai lavori precedenti. Tale popolazione campionaria, inoltre, è stata selezionata in modo da essere considerata rappresentativa della situazione generale delle popolazioni ovine venete, fornendo, così, un database storico di confronto per i dati futuri e un utile strumento alle istituzioni per la gestione dei programmi di conservazione della biodiversità allevata regionale. Anche a livello tecnico-divulgativo è stato possibile usufruire dei dati raccolti nella preparazione di una scheda tecnica, indirizzata soprattutto agli allevatori privati che, di concerto con gli allevamenti istituzionali (ad esempio l'azienda "Villiago" di Veneto Agricoltura), sono ritenuti fondamentali nei programmi di conservazione delle razze ovine venete, per le quali è necessario un approccio di valutazione su multi scala. Infatti, ad esempio, potrebbero insorgere in futuro dei problemi sanitari (ad es. scrapie) che richiedono l'abbattimento o il non utilizzo dei riproduttori. Ecco allora che attraverso studi di simulazione generazionale i soggetti istituzionali e privati coinvolti avrebbero a disposizione le informazioni utili per la gestione delle popolazioni su base pluriennale. Nel caso specifico, sebbene vi sia la possibilità, in relazione alle analisi eseguite con il software *Hybridlab*, di un eventuale divieto dei riproduttori maschi della classe di rischio V nelle popolazioni di Alpagota e Brogna, tale evenienza, se eseguita puntualmente nel breve periodo e finalizzata anche alla rimozione finale dei soggetti femmina, porterebbe, probabilmente, ad una rapida e drastica perdita di diversità, con riduzione consistente del numero medio di alleli per *locus*. Tale situazione, da evitare, impone delle scelte adeguate nel controllo delle monte e nel mantenimento di allevamenti principali (preferibilmente istituzionali) e

allevamenti secondari (privati), tra cui si auspica vi sia prevalentemente solo uno scambio programmato di riproduttori maschi.

Infine, va ricordato che, in questi ultimi decenni, sempre più razze autoctone a ridotta diffusione non vengano più allevate perché decadono gli stimoli economici o culturali. Da qui sorge la necessità di conservare le razze tramite anche azioni indirette, attraverso, ad esempio, l'incremento e la valorizzazione dei prodotti derivati: tra questi possiamo annoverare la carne, nella filiera corta valorizzata da azioni puntuali legate alla ristorazione in loco e tramite presidi *Slow Food* specifici. Discorso diverso invece per la lana delle razze venete, ad oggi non valorizzata e di scarso interesse. Tramite il metodo di analisi micro-morfometrico proposto, se gli studi futuri confermassero i risultati ottenuti, sarebbe possibile aver a disposizione un metodo economico di corollario all'analisi genetica (che rimane la base di studio), utile nei processi di controllo e autocontrollo (ad esempio dei produttori) della provenienza dei soggetti e della qualità specifica dei prodotti derivati della lana.

LETTERATURA CITATA

Adams, D.C., Rohlf, F.J. and Slice, D.E., (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the "revolution". *Italian Journal of Zoology*, 71:5-16

Alfonso, L., Parada, A., Legarra, A., Ugarte, E., Arana, A., (2006). The effects of selective breeding against scrapie susceptibility on the genetic variability of the Latxa Black-Faced sheep breed. *Genetics Selection Evolution*, 38:495-511

Álvarez, I., Gutiérrez J. P., Royo L. J., Fernández I., Gómez E., Arranz J. J., and Goyache, F., (2005). Testing the usefulness of the molecular coancestry information to assess genetic relationships in livestock using a set of Spanish sheep breeds. *Journal of Animal Science.*, 83:737-744

Álvarez, I., Royo, L.J., Gutiérrez, J.P., Fernández, I., Arranz, J.J., Goyache, F., (2007). Genetic diversity loss due to selection for scrapie resistance in the rare Spanish Xalda sheep breed. *Livestock Science*, 11:204-212

Backwell, L., Pickering, R., Brothwell, D., Berger, L., Witcomb, M. , Martill, D., Penkman, K., Wilson, A., (2009). Probable human hair found in a fossil hyaena coprolite from Gladysvale cave, South Africa. *Journal of Archaeological Science*, 36:1269-1276

Bayer, M. M., Droop, S. J. M. and Mann, D. G., (2001). Digital Microscopy in phycological research, with special reference to microalgae. *Phycological Research*, 49:263-274

Baumung, R., Cubric-Curik, V., Schwend, K., Achmann, R., and Sölkner, J., (2006). Genetic characterisation and breed assignment in Austrian sheep breeds using microsatellite markers information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 12:265-271.

Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., and Bonhomme, F., (1996-2004). GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>.

Bixby, D. E., and Sponenberg, D. P., (2008). Breed conservation in the United States of America. Fifth Congress on Iberoamerican Breeds and Criollos. <http://www.cormosheep.org/Cormo/Conservationx.html>.

Bondesan, V., Cassandro, M., Tormen, N., Stelletta, C., (2011). La conservazione delle razze ovine venete. Veneto Agricoltura (PSR 2007-13 misura 214/H – rete regionale delle Biodiversità Agraria, Progetto CONSAVIO: Conservazione genetica delle razze avicole e ovine autoctone), pp. 28

Bortolami, R., Callegari, E. & Beghelli, V., (2000). Anatomia e fisiologia degli animali domestici. Calderini Edagricole.

Burthem, J., Brereton, M., Arden, J., Hickman, L., Seal, L., Serrant, A., Hutchinson, C.V., Wels, E., McTaggart, De La Salle B., Parker-Williams J. and Hyde K., (2005). The use of digital “virtual slides” in the quality assessment of haematological morphology: results of a pilot exercise involving UK NEQAS (H) participants. *British Journal of Haematology*, 130:293-296

Caballero, A., and Toro, M. A., (2002). Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conservation Genetics*, 3:289–299.

Cabrio, G., (1965). Pecore Venete. Ramella Artigrafiche Ed., Biella, Italy.

Cervantes, I., Pastor, J.M., Gutierrez, J.P., Goyache, M.A. F., Molina, A., (2011). Computing effective population size from molecular data: the cases of three rare Spanish ruminant populations. *Livestock Science*, 138:202-206.

Ciucci, P. and Reggioni, W., (2003). Valutazione dell'affidabilità degli operatori per l'identificazione microscopica dei peli di mammiferi. *Hystrix, Italian Journal of Mammalogy* (n.s.) supp. 2003:46-47

Dalerum, F. and Angerbjörn, A., (2005). Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes. *Oecologia*, 144:647-658

Dalvit, C., De Marchi, M., Dal Zotto, R., Meuwissen, T.H.E., and Cassandro, M., (2008a). Genetic characterization of the Burlina cattle breed using microsatellites markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125:137–144.

Dalvit, C., Saccà, E., Cassandro, M., Gervaso, M., Pastore, E., and Piasentier, E., (2008b). Genetic diversity and variability in Alpine sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 80:45–51.

Dalvit, C., De Marchi, M., Zanetti, E. and Cassandro, M., (2009). Genetic variation and population structure of Italian native sheep breeds undergoing in situ conservation. *Journal of Animal Science*, 87:3837-3844

Debrot S., (1982). Atlas des poils de mammifères d'Europe. Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel Ed..

Di Stasio, L., (1980). Indagine genetica su tre razze ovine di montagna in via di estinzione. In Proc. Le possibilità delle colture e degli allevamenti nei territori alpini, St. Vincent, Italy.

Du Buf, H., Bayer, M., Droop, S., Head, R., Juggins, S., Fischer, S., Bunke, H., Wilkinson, M., Roerdink, J., Pech-Pacheco, J., Cristobal, G., Shahbazkia, H., Ciobanu, A., (1999). Diatom Identification: a double challenge called ADIAC. Proceedings of the 10th International Conference on Image Analysis and Processing, Venice, Italy, 27- 29 Sept 1999, 734-739

EC, Commission decision (2003/100/EC) of 13 February 2003 laying down minimum requirements for the establishment of breeding programmes for resistance to transmissible spongiform encephalopathies in sheep. *Official Journal of the European Union*, 14.2.2003, L41/41

Eding, J. U. and Laval, G., (1999). Measuring genetic uniqueness in livestock. Pages 33–58 in *Genebanks and the Conservation of Farm Animal Genetic Resources*. J. K. Oldenbroek, Institute for Animal Science and Health Ed., Lelystad, the Netherlands.

Elsen, J. M., Amigues, Y., Schelcher, F., Ducrocq, V., Andreoletti, O., Eychenne, F., Tien Khang, J.V., Poivey, J.P., Lantier, F., Laplanche, J.P., (1999). Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology*, 144:431–445

Fabuel, E., Barragán, C., Silió L., Rodriguez, M. C., and Toro, M. A., (2004). Analysis of genetic diversity and conservation priorities in Iberian pigs based on microsatellite markers. *Heredity*, 93:104–113.

FASS, (1999). Guide for Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. 1st rev. ed. Fed. Anim. Sci. Soc., Savoy, IL. Felsenstein, J. 1993–2002. Phylogeny Inference Package (PHYLP). Genomes Sciences, Department of Genetics, University of Washington, Seattle, WA. <http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>.

Giupponi, C., Ramanzin, M., Sturaro, E., and Fuser, S., (2006). Climate and land use changes, biodiversity and agro-environmental measures in the Belluno province, Italy. *Environmental Science & Policy*, 9:163–173.

Glowatzki-Mullis, M., J. Muntwyler, E. Bäumle, and Gaillard, C., (2008). Genetic diversity measures of Swiss goat breeds as decision-making support for conservation policy. *Small Ruminant Research.*, 74:202–211.

Goyache F., Gutiérrez, J.P., Fernandez, I., Gomez, E., Alvarez, I., Díez, J., Royo, L.J., (2003) Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120:95–103

Goudet, J., (1995). FSTAT (version 2.9.3): A computer programme to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 8:485–486.

Greenleaf, S. and Wright, R.G., (2005). The utility of carbon and nitrogen isotopic analyses in estimating dietary patterns of black bears in Yosemite Valley, Yosemite National Park, California, USA 2001-2003. Proceedings of the 16th *International Conference on Bear Research and Management*, Sept. 27th – Oct. 1st, Riva del Garda, Trentino, Italy, pp. 75-76

Guo, S. W., and Thompson, E. A., (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48:361–372.

Gutiérrez, J. P., Royo, L. J., Álvarez, I., and Goyache, F. (2005). MolKin v2.0: A computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *Journal of Heredity*, 96:718–721.

Hunter, N., Molecular biology and genetics of scrapie in sheep, in: Piper, L., Ruvinsky, A. (Eds.), (1997). *The Genetics of Sheep*, CAB International, Wallingford, pp. 225–240

Hutchinson, C.V., Brereton, M. and Burthem, J., (2005). Digital imaging of haematological morphology. *Clinical and Laboratory Haematology*, 27:357-362

ISAG/FAO Standing Committee. (2004). Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. <http://dad.fao.org/cgi-bin/getblob.cgi?sid=ca53b91a6f7c80be8e7066f4a5066dc1,50006220>.

Jakobsson, M., and Rosenberg, N. A., (2007). CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23:1801–1806.

Keller, A., (1978). Détermination des mammifères de la Suisse par leur pelage: I. *Talpidae et Soricidae*. *Revue Suisse de Zoologie*, 85(4):758-761

Keller, A., (1980). Détermination des mammifères de la Suisse par leur pelage: II. Diagnose des familles III. *Lagomorpha, Rodentia* (partim). *Revue Suisse de Zoologie*, 87(3):781-796.

Keller, A., (1984). Etude de la structure fine des jarres dorsaux de quelques Canidés sauvages et domestiques du genre *Canis* (Mammalia: *Canidae*). *Revue Suisse de Zoologie*, 91(4):973-992.

Keller, A., (1992). Note sur une étude comparative des jarres primaires de trois espèces d'Equidae: *Equus asinus*, *E. przewalskii* et *E. caballus*. *Revue Suisse de Zoologie*, 99(4):735-739.

Krebs, R., E. and Krebs, C. A. (2003). Groundbreaking Scientific Experiments, Inventions & Discoveries of the Ancient World. Westport, CT: Greenwood Press. ISBN 0-313-31342-3.

Legaz, E., Álvarez, I., Royo, L. J., Fernández, I., Gutiérrez, J. P., and Goyache, F., (2008). Genetic relationship between Spanish Assaf (Assaf.E) and Spanish native dairy sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 80:39–44.

Mann, W-Y. N., Lewis, R. M., Boulton, K., Villanueva, B., (2007). Predicting the consequences of selecting on PrP genotypes on PrP frequencies, performance and inbreeding in commercial meat sheep populations. *Genetics Selection Evolution*, 39:711-729

Mendelsohn, R., (2003). The challenge of conserving indigenous domesticated animals. *Ecological Economics*, 45:501–510.

Mikuzami, R.N., Goto, M., Izumiyama, S., Hayashi, H. and Yoh, M., (2005). Estimation of feeding history by measuring carbon and nitrogen stable isotopes ratios in hair of Asiatic black bears. *Ursus*, 16(1):93-101

Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D. B., Feldman, M. W., and Cavalli-Sforza, L. L. , (1998). Microsat2: A computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Department of Genetics, Stanford University, Stanford, CA. <http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat/>.

Montanari, V., (1954). L'allevamento del bestiame nel Veneto Friuli Venezia Giulia. Pages 140–146 Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Ispettorato Agrario

Compartimentale delle Venezie Ed., Italy.

Nei, M., (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY. Page, R. D. M. (200). TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12:357-358.

Nielsen, E. EG., Bach, L.A., Kotlicki, P., (2006). Hybridlab (version 1.0): a program for generating simulated hybrids from population samples. *Molecular Ecology Notes*, 6 (4):971-973

Page, R. D. M., (1996). TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12:357-358.

Pariset, L., Savarese, M. C., Cappuccio, I., and Valentini, A., (2003). Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120:425–432.

Pastore, E., (2002). *Le razze ovine autoctone del Veneto*. Veneto Agricoltura Ed., Legnaro (PD), Italy

Pastore, E., and Fabbris, L., (1999). *L'allevamento ovi-caprino nel Veneto, analisi e prospettive future di un settore ricco di storia*. Veneto Agricoltura Ed., Legnaro (PD), Italy

Patrashkov, S.A., Petukhov, V.L., Korotkevich, O.S. and Petukhov, I. V., (2003). Content of heavy metals in the hair. *Journal de Physique IV France*. 107, p. 1025

Pretto, D., De Marchi, M., Dalvit, C., and Cassandro, M., (2009). Comparing profitability of Burlina and Holstein Friesian cattle breeds. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (3):65-67.

Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P., (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155:945–959

Proffit, R.T., Tran, J.V. and Reynolds, C. P., (1996). A fluorescence digital image microscopy system for quantifying relative cell numbers in tissue culture plates. *Cytometry*, 24(3):204-213.

Quiroz, J., Martinez, A. M., Zaragoza, L., Perezgrovas, R., VegaPla, J. L., and Delgado, J. V., (2008). Genetic characterization of the autochthonous sheep populations from Chiapas, Mexico. *Livestock Science*, 116:156–161.

Raymond, M., and Rousset, F., (1995). GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86:248–249

Rancourt, M., Fois, N., Lavin, M. P., Tchakerian, E., and Vallerand, F., (2006). Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future. *Small Ruminant Research*, 62:167–179

Rasband W., (2011) National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, web site <http://rsbweb.nih.gov/ij>

Rege, J. E. O. and Gibson, J. P., (2003). Animal genetic resources and economic development: Issues in relation to economic evaluation. *Ecological Economics*, 45:319–330

Rendo, F., Iriondo, M., Jugo, B. M., Mazón, L. I., Aguirre, A., Vicario, A., and Estonba, A., (2004). Tracking diversity and differentiation in six sheep breeds from the North Iberian Peninsula through DNA variation. *Small Ruminant Research*, 52:195–202

Rizzuto, R., Carrington, W., Tuft, R. A., (1998). Digital imaging microscopy of living cells. *Trends in Cell Biology*, 8(7):288–292

Rosenberg, N. A., (2004). Distruct: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4:137–138

Sahajpal, V., Goyal, S. P., Thakar, M. K., Jayapal, R., (2009). Microscopic hair characteristics of a few bovid species listed under Schedule-I of Wildlife (Protection) Act 1972 of India. *Forensic Science International*, 189:34–45

Santos-Silva, F., Ivo, R. S., Sousa, M. C. O., Carolino, M. I., Ginja, C., and Gama, L. T., (2008). Assessing genetic diversity and differentiation in Portuguese coarse-wool sheep breeds with microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 78:32–40.

SAS Institute, (2011). SAS/STAT® User's Guide: Statistics, Version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC.

Sheath, R.G., (1989). Applications of image analysis and multivariate morphometrics for algal systematics. *Journal of Phycology*, 25:3–5

Skraba, K. D., (2003). A Microscopical Study of Exotic Animal Hair: Part 1. *Modern Microscopy Journal*, (23 October 2003). (on line journal)

Slow Food Foundation, (2008). Presidio Slow Food. A logo for the Italian Slow Food Presidia. http://www.presidislowlfood.it/pdf/italian_slowfood_presidia.pdf.

Stravisi, A., (2007). Uso del pelo nel monitoraggio dei grandi carnivori. Tesi di dottorato, Dottorato di Ricerca in Scienze e Biotecnologie Agrarie, Ciclo XIX, Università degli Studi di Udine

Taberlet, P., Valentini, A., Rezaei, H. R., Naderi, S., Pompanon, F., Negrini, R., and Ajmone-Marsan, P. (2008). Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology*, 17:275–284.

Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar., (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24:1596–1599.

Teerink, B.J., (1991). Hair of West-European mammals. Atlas and identification key. Cambridge University Press, pp. 24

Thirstrup, J. P., Pertoldi, C., and Loeschcke, V., (2008). Genetic analysis, breed assignment and conservation priorities of three native Danish horse breeds. *Animal Genetics*, 39:496–505.

Tormen, N., (2011). The trichological analysis in the study of local sheep breeds. *Ital. Italian Journal of Animal Science*, 10 (suppl. 1), p. 37.

Tormen, N., Zanetti, E., Bondesan, V., Cassandro, M., (2011) Strategies for assessing conservation priorities in sheep breeds. *Italian Journal of Animal Science*, 10 (suppl. 1), p. 67

Toro, M. A., and Caballero, A., (2005). Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360:1367–1378

Tóth, M.A., (2002). Identification of Hungarian Mustelidae and other small carnivores using guard hair analysis. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 48(3): 237-250

Van Kaam, J.B.C.H.M., Finocchiaro, R., Vitale, M., Pinelli, F., Scimonelli, M., Vitale, F., Portolano, B., Oltenacu, P.A., Caracappa, S., (2008). Prion protein gene frequencies in three Sicilian dairy sheep populations. *Italian Journal of Animal Science*, 7: 87-94

Vicente, A. A., Carolino, M. I., Sousa, M. C. O., Ginja, C., Silva, F. S., Martinez, A. M., VegaPla, J. L., Carolino, N., and Gama, L. T., (2008). Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *Journal of Animal Science*, 86: 2496–2507.

Valdecasa A.G., Becerra, J.M. and Marshall, D., (1997). Extending the availability of microscopic type material for taxonomy and research. *Trends in Ecology and Evolution*, 12(6):211-212

Valentin, D., Abdi, H., O'Toole, A. J. and Cottrel, G. W., (1994). Connectionist models of face processing: a survey. *Pattern Recognition*, 27:1209-1230

Weir, B. S., and Cockerham, C. C., (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358–1370.

Waits L .P., Bellemain, E., De Barba, M., Randi, E. and Taberlet, P., (2005). Non-invasive genetic sampling and population estimation of brown bears in Europe. *Proceedings of the 16th International Conference on Bear Research and Management*, Sept. 27th – Oct. 1st, Riva del Garda, Trentino, Italy, pp. 25-26

Watanabe, I., Ichinashi, H., Tanabe, S., Amano, M., Miyazaki, N., Petrov, E. A. and Tatsukawa, R., (1996). Trace element accumulation in Baikal seal (*Phoca sibirica*) from the Lake Baikal. *Environmental Pollution*, 94(2):169-179.

Weeks, P. J. D. and Gaston, K. J., (1997). Image analysis, neural networks and the taxonomic impediment to biodiversity studies. *Biodiversity and Conservation*, 6:263-274.

Zanetti, E, De Marchi, M., Dalvit, C., and Cassandro, M., 2010. Genetic characterization of local Italian breeds of chickens undergoing in situ conservation. *Poultry Science*, 89:420–427

LISTA DELLE PUBBLICAZIONI

Tormen, N., Guidolin, L., Razzara, E., Stoppini, E., Cassandro, M., (2009). L'ANALISI TRICOLOGICA NELLO STUDIO DELLE SPECIE A RISCHIO UN NUOVO APPROCCIO METRICO: DATI PRELIMINARI , Atti. 70° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana, *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 71, p. 214

Villa Alves, F., **Tormen**, N., Zanetti, E., Abbadi, M., Bondesan, V., Cassandro, M., (2010). CONTRIBUIÇÕES DO PROGRAMA DE CONSERVAÇÃO DE OVINOS AUTÓCTONES DO VÊNETO (ITÁLIA) PARA O BRASIL. Comunicazione orale. Atti del XI *Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos*. João Pessoa, Paraíba, Brazil: 17 - 19 novembre 2010

Tormen, N., Abbadi, M., Zanetti, E. , Dalvit, C., Filippini, R., Cassandro, M., (2010). The genetic diversity in two local Italian sheep breeds: is selective breeding against scrapie susceptibility possible? *Acta Agraria Kaposváriensis*, 14:2, 259-266

Stelletta, C., Juyena, N. S., Calabria, A. **Tormen**, N., Bondesan, V., (2010). Caratteristiche spermatiche epididimali di razze ovine venete. In: XIX CONGRESSO NAZIONALE S.I.P.A.O.C., *Large Animal Review*, suppl. al numero 5, p. 107

Tormen, N., (2011) The trichological analysis in the study of local sheep breeds. *Italian Journal Animal Science*, vol.10: supp. 1, p 37

Tormen, N., Zanetti, E., Bondesan, V., Cassandro, M., (2011). Strategies for assessing conservation priorities in sheep breeds. *Italian Journal Animal Science*, vol.10: supp. 1, p. 67

Bondesan, V. Cassandro, M., **Tormen**, N., Stelletta, C., (2011) La conservazione delle razze ovine venete. Veneto Agricoltura (PSR 2007-13 misura 214/H – rete regionale delle Biodiversità Agraria), pp. 28
<http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3720>

Pellattiero, E., Cecchinato, A., De Marchi, M., Penasa, M., **Tormen**, N., Schiavon, S., Cassandro, M., and Bittante, G., (2011). Growth rate, slaughter traits and meat quality of lambs of three alpine sheep breeds. Proceeding of 19th Animal Science Day, 19th-23th settembre, Primosten (Croazia), p. 28

RINGRAZIAMENTI

Ed eccoci alla parte più facile e più difficile allo stesso tempo di tutto questo lungo lavoro. Nel corso della mia vita, finora, sono giunto alla conclusione che non c'è un sistema unico per tradurre correttamente pensieri, emozioni, idee di una parte del proprio tempo in parole scritte, tante o poche che siano. O vengono da sole o non vale la pena di sforzarsi a trovarle. Ora, in un momento che non centrava niente con questo studio, mi sono fermato un attimo e ho riletto di sfuggita un passaggio del "Piccolo Principe", lo stesso con cui ho aperto questo lavoro di tesi... e ho saputo cosa fare.

Per prima cosa volevo ringraziare i miei genitori e mia nonna Lina, perché mi hanno sempre sostenuto, anche quando spesso non sono riuscito a spiegare loro, come volevo, cosa stavo facendo nella mia vita.

Poi Martino e Valerio, senza i quali tutta questa esperienza non sarebbe stata né possibile né formativa: grazie delle dritte, degli aiuti, dei suggerimenti, delle scornate, degli stimoli e di esserci stati sempre, soprattutto quando ne avevo bisogno.

Gregor G., per la pazienza, la competenza e la passione con cui mi ha spiegato la Statistica.

Silvano, Alberto, Sergio, Mauro e Italo (Io so, non sei di V.A., ma sei il veterinario omeopata dell'azienda e anche se non sopporti molto le pecore - e forse per loro vale lo stesso - per me fai parte comunque del gruppo!), senza i quali l'esperienza a Villiago probabilmente non sarebbe stata così bella: grazie delle risate, delle chiacchiere, della passione e della competenza con cui fate le cose e che avete condiviso anche con me.

Gli amici e i compagni di lavoro e avventura (anche internazionale) facenti capo al DSA e al DAFNAE e altri della mia Università degli Studi di Padova, con i

quali ho condiviso spazi, tempo, meteo, umore, congressi, richieste, studi, pc, corsi, esami, piani sperimentali, avventure, pompelmi, paddock, SAS® e R, sogni, delusioni, momenti sulle passerelle delle stecche agli orari più improbi oppure nottate in tubo ed in lab, caipirinha, churrasco, mate e formichieri giganti, esercitazioni di informatica, topastri vari, uscite didattiche, campionamenti in giro per il Veneto e altrove, provette con EDTA e Sodio Citrato, server, cartine TFA®, micropipette, mensa ESU e pranzo in ufficio, tè, caffè e soprattutto... amicizia. Grazie a tutti, ma in maniera particolare a Enrico Z., Denis P., Mara B., Francesco TMDSLR, Lucia A., Fabio M., Miriam A., Cristina S., Marco T., Marta B., Enrico S., Rosalba, Martina, Calogero, Laura G. e Fabiana V.A.: avete reso unico il mio tempo con voi.

Grazie al mio Amore, mia moglie Chiara. Anche se ancora non riesco a spiegarmi come hai fatto, in tutto questo tempo insieme mi hai sempre accettato per come sono, sostenuto e aiutato. Non sarei quello che sono adesso e non sarei arrivato a fare quello che ho fatto, senza di Te.

Infine un ultimo pensiero a tutte le pecore, gli agnelli e i montoni che, in questi anni, "a causa" del mio lavoro di dottorato, hanno dato il sangue, si sono fatti tirare i peli del vello, piantare le dita tra i processi trasversi delle vertebre per valutare il BCS, aprire la bocca per sapere l'età, pesare, valutare, campionare, fotografare e trasportare in giro per il Veneto e oltre... GRAZIE!

ALLEGATO I

SPERIMENTAZIONI 2012 PER LA AGRICOLTURA BIOLOGICA

**Azienda pilota e dimostrativa Villiago
azienda aperta - protocolli aperti**



FEASR



REGIONE DEL VENETO



Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l'Europa investe nelle zone rurali



Sperimentazioni 2012 per la AGRICOLTURA BIOLOGICA

Azienda pilota e dimostrativa
Villiago

azienda aperta - protocolli aperti

Iniziativa finanziata dal Programma di Sviluppo Rurale per il Veneto 2007-2013

Organismo responsabile dell'informazione: **Veneto Agricoltura**

Autorità di gestione: **Regione del Veneto – Direzione Piani e Programmi Settore Primario**

Lavoro eseguito da Veneto Agricoltura
Sezione Ricerca Agraria e Gestioni Agroforestali
Direttore, Giustino Mezzalana

coordinato da
Lorenzo Furlan, Dirigente del Settore Ricerca Agraria

Al gruppo di lavoro hanno collaborato:

Veneto Agricoltura:

Settore Ricerca Agraria

Maurizio Arduin, Valerio Bondesan, Carlo Cappellari, Francesca Chiarini, Renzo Converso,
Silvano Cossalter, Giuseppe Crocetta, Luigino Schiavon, Serenella Spolon, Nicola Tormen

Settore bioenergia e cambiamento climatico

Loris Agostinetto, Federico Corraeale, Fabiano Dalla Venezia

Università degli Studi di Padova:

Lucia Michelini, Rossella Ghisi – *Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE)*

ARPAV Servizio Osservatorio Rifiuti e Servizio Osservatorio Suolo e Bonifiche

La Dolomiti Ambiente S.p.A.

Giuseppe De Biasi

Realizzazione cartografica:

Fabio Vianello

Pubblicazione edita da:

Veneto Agricoltura

Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale ed Agroalimentare

Viale dell'Università, 14 – 35020 Legnaro (PD)

Tel. 049 8293711 – Fax 049 8293815

e-mail: ricerca@venetoagricoltura.org

www.venetoagricoltura.org

Realizzazione editoriale:

Veneto Agricoltura

Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale ed Agroalimentare

Coordinamento editoriale:

Stefano Barbieri, Silvia Ceroni, Federica Mazzuccato

Settore Divulgazione Tecnica, Formazione Professionale ed Educazione Naturalistica

Via Roma, 34 – 35020 Legnaro (PD)

Tel. 049 8293920 – Fax 049 8293909

e-mail: divulgazione.formazione@venetoagricoltura.org

È consentita la riproduzione di testi, tabelle, grafici ecc. previa autorizzazione da parte di Veneto Agricoltura, citando gli estremi della pubblicazione.

Finito di stampare nel mese di settembre 2012

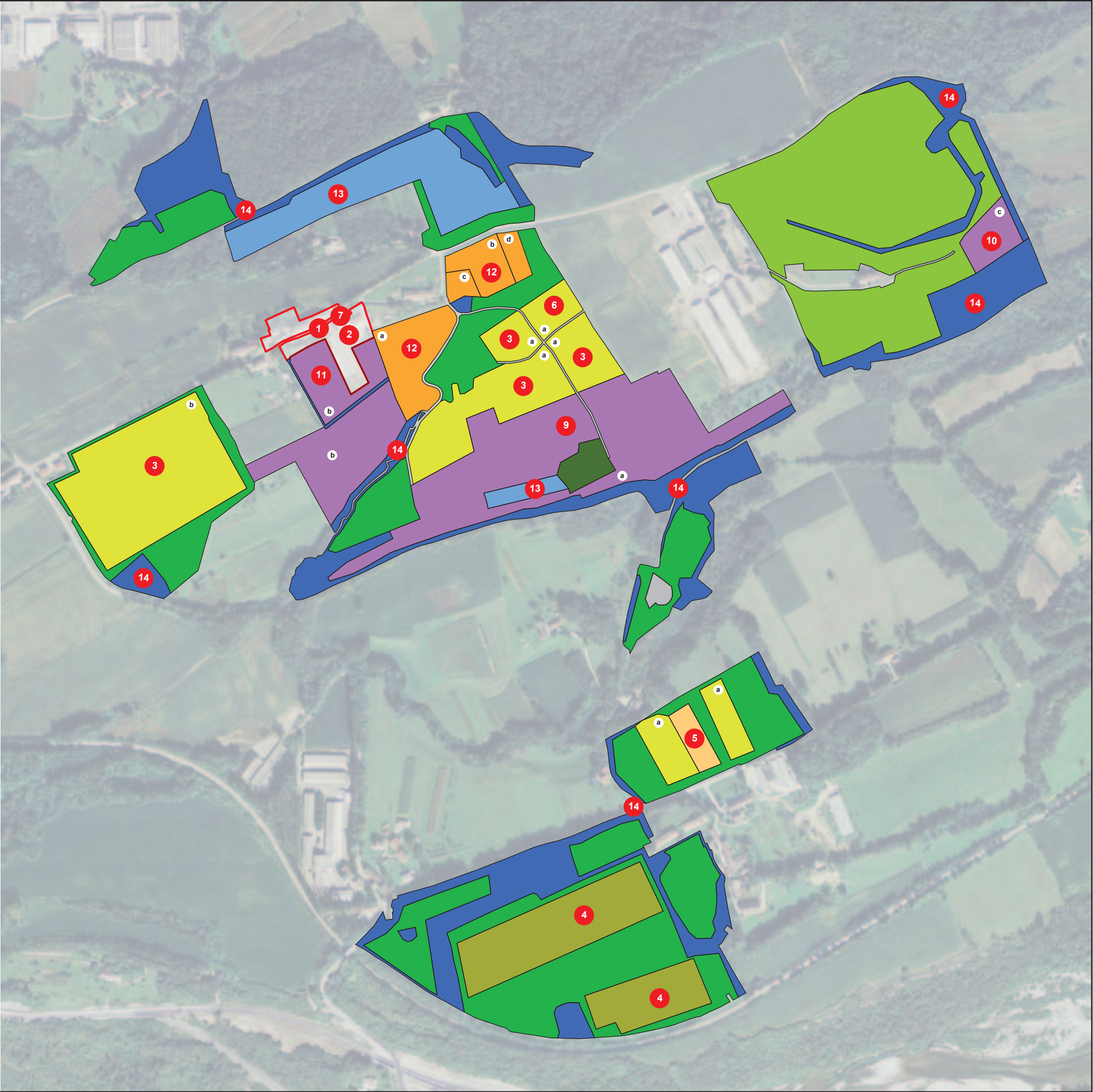
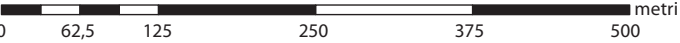
**AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA VILLIAGO
SEDICO (BL)**

LEGENDA DELLE COLTURE:

-  Centro aziendale
-  Frutticoltura
① melo; ② pero; ③ piccoli frutti; ④ progetto Divers
-  Officinali
-  Arboricoltura da legno di pregio
-  Filiera legno-energia
bosco ceduo
-  Cerealicoltura
① frumento e medica; ② mais
-  Pascolo
① bovini; ② ovini; ③ suini
-  Prato avvicendato
medica
-  Prato pascolo
-  Prato permanente
-  Nocciolo
-  Roccolo

ELENCO PROGETTI SPERIMENTALI 2012:

1	AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA "VILLIAGO"
2	STRUMENTI PER LA PREDISPOSIZIONE DEL BOLLETTINO COLTURE ERBACEE
3	CEREALI IN CULTURA BIOLOGICA (PSR - Misura 214/c)
4	LA GESTIONE DEI PRATI IN BIOLOGICO (PSR - Misura 214/c)
5	OFFICINALI
6	FRUMENTO TENERO ED ORZO: confronto varietale parcellare con tecniche biologiche (PSR - Misura 214/c)
7	PROGETTO DIGESTATO: valorizzazione agronomica dei materiali derivanti dal trattamento anaerobico della FORSU
8	FAGIOLO DI LAMON: esperienze di coltivazione
9	BOVINI: produzione di carne biologica di vitello in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)
10	SUINI: produzione di carne suina biologica in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)
11	CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ OVINA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)
12	SPERIMENTAZIONE ED ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA IN FRUTTICOLTURA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)
13	ARBORICOLTURA DA LEGNO DI PREGIO
14	GESTIONE DEL BOSCO CEDUO ED IPOTESI DI FILIERA DEL LEGNO-ENERGIA



AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA “VILLIAGO”

Ubicazione e inquadramento territoriale

L'azienda pilota e dimostrativa “Villiago”, si trova a circa 380 m di altitudine e prende il nome dalla omonima frazione Villiago, del Comune di Sedico (BL). Situata in zona montana all'interno del territorio della Comunità Montana Val Belluna, l'azienda si estende sulla sponda destra del fiume Piave, tra la Strada Statale n. 50 del Grappa e del Passo Rolle e il Piave stesso, ed è caratterizzata da un ambiente pedoclimatico tipico del fondovalle alpino.

In questo ambiente di montagna trova spazio una vegetazione naturale composta da latifoglie (carpino bianco, frassino maggiore, roverella, castagno, ontano nero, nocciolo, robinia, ecc.), che formano macchie boscate e da siepi che delimitano gli appezzamenti destinati alle colture agrarie. Anche la fauna selvatica si caratterizza per la presenza di numerose specie quali caprioli, cervi, cinghiali, volpi, lepri, uccelli predatori diurni e notturni, fagiani, starni, quaglie, ecc.

Caratteristiche dell'azienda

L'azienda “Villiago” si estende su una superficie complessiva di 70 ettari di cui circa 50 di proprietà della Regione Veneto e 20 di proprietà della Provincia di Belluno. Tutta l'azienda, dal luglio 2004, è certificata come unità produttiva con metodo biologico, ai sensi del Reg. CE 834/2007 e successive modifiche. La conformazione e le caratteristiche dei terreni sono adatte alla produzione del prato-pascolo mentre presentano qualche limitazione per altre colture.

L'attuale indirizzo produttivo prevalente è zootecnico-foraggero, con le seguenti coltivazioni:

- 12 ha mais - frumento - erbaio di trifoglio, coltivati con metodo biologico in rotazione triennale;
- 8 ha prato pascolo;
- 7 ha pascolo permanente;
- 20 ha prato permanente;
- 2 ha frutteto (melo, pero, piccoli frutti);
- 15 ha bosco di latifoglie;
- 6 ha tare.

La zootecnia aziendale è costituita da:

- un toro di razza Limousine e 20 vacche fattrici di razza Pezzata Rossa, allevate in linea vacca-vitello, che annualmente producono una ventina di vitelli;
- 120 pecore, 40 montoni in selezione e 60 agnelli da rimonta;
- circa 20 suini da ingrasso allevati allo stato semibrado.



Obiettivi e Azioni

Gli obiettivi principali dell'attività dell'Azienda "Villiago" sono lo svolgimento di attività sperimentali e dimostrative utili a migliorare le potenzialità di aziende multifunzionali in area montana, puntando prioritariamente alla conservazione delle risorse ambientali e alla valorizzazione dei prodotti agricoli.

L'Azienda "Villiago" attualmente opera in diversi settori dell'agricoltura (zootecnia bovina, ovina e suina, cerealicoltura, foraggicoltura, frutticoltura, agronomia) e forestali. Di particolare rilievo sono i progetti relativi alla produzione di carne biologica suina e bovina, alla conservazione e valorizzazione della biodiversità ovina, allo sviluppo della frutticoltura (melo e pero) attraverso l'introduzione di varietà resistenti alla ticchiolatura. Recentemente sono state avviate anche sperimentazioni riguardanti il comportamento agronomico – produttivo di cultivar di frumento tenero in biologico e l'utilizzazione agronomica di digestato liquido e compost provenienti da rifiuti solidi urbani.

I progetti prevedono la sperimentazione e la dimostrazione pratica dell'utilizzo di nuove tecnologie ed attrezzature volte al miglioramento delle produzioni biologiche e delle tecniche produttive.

Per le attività sperimentali e divulgative in essere, l'azienda "Villiago" ha sviluppato diverse collaborazioni con il mondo produttivo agricolo, gli enti locali, le scuole tecniche agrarie e con istituzioni di ricerca (Università degli Studi di Padova, Istituto Zooprofilattico delle Venezie, ecc.).

Azienda aperta – protocolli aperti

È possibile visitare tutte le sperimentazioni presenti in azienda con l'approccio «azienda aperta, protocolli aperti», che consente a tecnici e agricoltori di conoscere e valutare di persona le prove in atto nell'arco dell'intera stagione e di fornire anche utili suggerimenti per i protocolli sperimentali.

A tal fine, questa pubblicazione fornisce una **mappa generale** con l'ubicazione delle diverse sperimentazioni, che rimanda alle **singole schede dei progetti sperimentali** nelle quali sono descritti gli obiettivi, i protocolli di lavoro con i metodi e i diversi rilievi previsti rendendo possibile ogni autonoma valutazione. Per facilitare le visite e fornire ulteriori informazioni, i tecnici di Veneto Agricoltura sono a disposizione anche guidando **gruppi tematici**: strumenti per il *Bollettino colture erbacee*, sperimentazioni agronomiche su colture erbacee in biologico, sperimentazione frutticola in biologico, sperimentazione zootecnica in biologico, conservazione biodiversità ovina, valorizzazione agronomica del digestato e del compost, arboricoltura da legno di pregio, filiera legno-energia.



SOMMARIO

1	AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA "VILLIAGO"	pag.	1
2	STRUMENTI PER LA PREDISPOSIZIONE DEL BOLLETTINO COLTURE ERBACEE	»	4
3	CEREALI IN CULTURA BIOLOGICA (PSR - Misura 214/c)	»	6
4	LA GESTIONE DEI PRATI IN BIOLOGICO (PSR - Misura 214/c)	»	7
5	OFFICINALI	»	8
6	FRUMENTO TENERO ED ORZO: confronto varietale parcellare con tecniche biologiche (PSR - Misura 214/c)	»	10
7	PROGETTO DIGESTATO: valorizzazione agronomica dei materiali derivanti dal trattamento anaerobico della FORSU	»	12
8	FAGIOLO DI LAMON: esperienze di coltivazione	»	18
9	BOVINI: produzione di carne biologica di vitello in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)	»	20
10	SUINI: produzione di carne suina biologica in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)	»	22
11	CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ OVINA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)	»	24
12	SPERIMENTAZIONE ED ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA IN FRUTTICOLTURA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)	»	26
13	ARBORICOLTURA DA LEGNO DI PREGIO	»	31
14	GESTIONE DEL BOSCO CEDUO ED IPOTESI DI FILIERA DEL LEGNO-ENERGIA	»	37

STRUMENTI PER LA PREDISPOSIZIONE DEL BOLLETTINO COLTURE ERBACEE

Veneto Agricoltura, ARPAV, Unità Periferica Servizi Fitosanitari Regionali,
Università degli Studi di Padova (TeSAF e DAFNAE)

Il "*Bollettino Colture erbacee*" è un nuovo servizio, partito nel 2010, promosso da **Veneto Agricoltura**, in collaborazione con **ARPAV, Servizio Fitosanitario** regionale e l'**Università degli Studi di Padova (TeSAF e DAFNAE)**. Ha lo scopo di **informare le aziende agricole** venete, **in tempo reale** a mezzo e-mail e SMS, sulle problematiche relative alle colture erbacee in modo da effettuare i trattamenti con fitofarmaci e in generale i diversi interventi tecnici, ove e quando necessario, in modo da aumentarne l'efficacia anche riducendo i costi e l'impatto sull'ambiente. A tal fine, oltre a specifiche metodiche, si utilizzano la diffusa **rete di rilevamento** ambientale ARPAV e le Aziende Pilota di Veneto Agricoltura.

Il "*Bollettino Colture erbacee*" è un servizio in linea con la **nuova normativa europea sui fitofarmaci** (Direttiva 2009/128/CE), che prevede l'attuazione obbligatoria della **lotta integrata su tutte le colture**. Mentre una certa sensibilità e diffusione di informazioni tecniche si riscontrano per le colture arboree, un approccio di lotta integrata per le colture erbacee, che occupano la gran parte della superficie coltivata regionale, è poco presente. Si richiede pertanto un apprezzabile sforzo per raggiungere il risultato di una corretta applicazione della lotta integrata nelle aziende a seminativo.

In considerazione della redditività modesta delle colture erbacee nonché delle scarse disponibilità di manodopera e di tradizioni tecniche in materia, sono necessari degli strumenti di lotta semplici e a basso costo che consentano di individuare in modo sufficientemente affidabile se e dove si presenti la necessità di strategie di controllo. A tal fine è necessario il bollettino quale primo strumento importante per attuare la:

- A) lotta integrata a livello territoriale basata su monitoraggi e modelli previsionali su larga scala;**
- B) lotta integrata a livello aziendale per accertamenti più puntuali ove i monitoraggi territoriali hanno evidenziato rischi di danno.**

Il bollettino agisce su entrambi, fornendo le informazioni generali e gli strumenti per gli approfondimenti specifici per le singole aziende.

Contenuti

Vengono fornite informazioni, modulate se necessario a seconda dei diversi ambiti territoriali regionali, sulle principali attività di monitoraggio e sull'andamento dello sviluppo delle colture e dei principali fitofagi abbinandole allo sviluppo della coltura. Tali informazioni riguardano sia le colture autunno-vernine, sia le estive; tra le principali:

- periodo delle semine con valutazione di eventuali rischi nelle prime fasi di sviluppo;
- tecniche agronomiche riferite all'andamento stagionale incluse quelle sulla razionalizzazione degli interventi di diserbo;
- allertamento per eventuali attacchi di nottue (bissomoro) in aprile-maggio;
- andamento della schiusa delle uova e presenza degli adulti di diabrotica;
- livelli di popolazioni di piralide, valutazione necessità e momento utile per effettuare trattamenti sovrachioma con effetti su produzione e qualità del prodotto (micotossine);
- altri fitofagi: si prevede, altresì, di monitorare insetti generalmente meno diffusi, ma che talora possono localmente creare problemi (ad es. *Helicoverpa armigera*).

È presente anche una sessione specifica sulla Agricoltura Conservativa per dare assistenza su questa misura nuova su cui è particolarmente sentito il bisogno di informazioni.

Caratteristiche

Flessibilità: la cadenza è mediamente almeno settimanale, ma variabile a seconda delle necessità, poiché vengono strettamente seguiti l'evoluzione delle colture e dei parassiti; quando vi sono rischi immediati viene data l'allerta a mezzo SMS;

Preparazione: si danno informazioni continue su singole problematiche informando fin da subito come reagire alla comparsa ad esempio di fitofagi in modo che l'utente sia realmente preparato a reagire correttamente e prontamente al messaggio di allerta;

Formazione: i bollettini sono strutturati per consentire approfondimenti e il riconoscimento di sintomi e agenti dannosi;

Compartecipazione: gli utenti possono usufruire delle informazioni ed al contempo utilizzare strumenti di monitoraggio che consentono di definire le previsioni del bollettino in tal modo anche verificando nelle proprie condizioni i monitoraggi;

Interattività: possibilità di porre quesiti e proporre modifiche ed approfondimenti.

Informazioni in tempo reale

I bollettini sono rivolti a tutti i soggetti coinvolti nella coltivazione delle colture erbacee: agricoltori, singoli o associati, tecnici, contoterzisti, ditte sementiere, consorzi, essiccatoi, ecc.

Le informazioni ottenute dal monitoraggio e dall'analisi dei modelli previsionali sono disponibili consultando i bollettini che vengono pubblicati dagli Enti Istituzionali coinvolti nel progetto e diffusi a mezzo internet, posta elettronica e messaggi telefonici (SMS) particolarmente per le informazioni urgenti.

Internet: oltre ad essere inviati direttamente ai soggetti iscritti, i bollettini sono pubblicati sulle pagine appositamente dedicate dagli Enti coinvolti nel progetto. In particolare questi sono gli indirizzi a cui collegarsi:

Veneto Agricoltura: <http://www.venetoagricoltura.org/subindex.php?IDSX=120>

ARPAV: http://www.arpa.veneto.it/upload_teolo/agrometeo/index.htm

Regione Veneto: <http://www.regione.veneto.it/Economia/Agricoltura+e+Foreste/Servizi+Fitosanitari/>

SMS: per ricevere un SMS di avviso o di aggiornamento di particolari situazioni critiche, si contatti Veneto Agricoltura al numero telefonico 049.8293847 o alla mail bollettino.erbacee@venetoagricoltura.org fornendo il numero di cellulare al quale si desidera ricevere i messaggi.

L'azienda Villiagio, come le altre aziende pilota dimostrative di Veneto Agricoltura, è uno dei principali punti del monitoraggio regionale nonché punto di verifica in continuo sull'attendibilità dei modelli.

Si possono osservare:

- a) le trappole YATLORf a feromoni per il monitoraggio di elateridi e diabrotica;
- b) le trappole a feromoni per gli adulti di nottue;
- c) la trappola luminosa per il monitoraggio di piralide ed altri insetti;
- d) trappole per adulti di *Helicoverpa armigera*.

Risultati 2011

I numerosi risultati ottenuti nel 2011 sono già stati oggetto di prima presentazione nei Seminari del **23 gennaio** e **13 febbraio 2012**, consultabili tramite il Bollettino Colture erbacee al link <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3799>

Trappola cromotropica



Trappola YATLORf



Trappola luminosa



CEREALI IN CULTURA BIOLOGICA (PSR - Misura 214/c)

Veneto Agricoltura

Obiettivi della sperimentazione

- valutazione di cereali biologici per la zootecnia;
- valutazione di un modello di coltivazione biologica di cereali esportabile sul territorio.

Particolare interesse riveste la possibilità di introdurre in Valbelluna la produzione di frumento di qualità per diversi usi.

Descrizione del protocollo

I cereali sono inseriti in rotazione triennale mais - cereale autunno vernino - trifoglio/medica.

Frumento varietà Bologna (1.88 ha) - varietà Valbona (1.85 ha)

Precessione: mais

Lavorazione: aratura 20 cm con interrimento residui mais; erpicatura e dissodamento

Data di semina: 12 ottobre 2011

Densità di semina: 200 kg/ha. Seminatrice meccanica Mod. Marzia

Data emergenza: 26 ottobre 2011

Concimazione: 1^a concimazione - 17 febbraio 2012 - sovescio cover, Bioilsa (N 12,5%) 0,35 t/ha
2^a concimazione - 26 marzo 2012 - Bioilsa (N 12,5%) 0,6 t/ha

Strigliatura e rullatura: 27 marzo 2012 (Bologna) - 28 marzo 2012 (Valbona)

Bulatura medica varietà Classe: 27 marzo 2012

Data inizio levata: 28 marzo 2012

Data inizio spigatura: 14 maggio 2012 (Bologna) - 14 maggio 2012 (Valbona)

Data inizio fioritura: 20 maggio 2012 (Bologna) - 18 maggio 2012 (Valbona)

Data raccolta: 9 luglio 2012

Mais varietà Kamil (SIS) gg 115 (ha 4.00)

Precessione: prato avvicendato (trifoglio con gramminacee spontanee)

Concimazione: sovescio cover, letame 18/20 t/ha, Bioilsa (N 12,5%) 0,9 t/ha

Lavorazione: aratura 20 cm, erpicatura con vibrocultore

Data di semina: 9 maggio 2012 con seminatrice pneumatica 4 file

Data emergenza: 16 maggio 2012

Sarchiatura e pirodiserbo e rincalzatura: 1^a - 28 maggio 2012

2^a - 15 giugno 2012

3^a - 25 e 26 giugno 2012

Risultati

Produzione frumento: Bologna 4,30 t/ha (umidità alla raccolta 14%), Valbona 4,97 t/ha (umidità alla raccolta 14%). Le produzioni su piccole superfici e limitate ad un anno sono solo indicative sulla possibilità della coltivazione della coltura in Valbelluna.

Produzione mais ibridi: medie negli ultimi anni tra 4 e 6 t/ha.

I numerosi risultati ottenuti nel 2011 sono già stati oggetto di prima presentazione al seminario del **27 febbraio 2012** e sono consultabili tramite il Bollettino Colture Erbacee al link:

<http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3924>



LA GESTIONE DEI PRATI IN BIOLOGICO (PSR - Misura 214/c)

Veneto Agricoltura

Obiettivi

- produzione di foraggi biologici per l'alimentazione del bestiame;
- salvaguardia e mantenimento delle superfici foraggere soggette ad abbandono dell'attività agricola;
- creazione di modelli di utilizzo delle superfici foraggere con metodo biologico.

Tecnica colturale

Pascolo

Periodo di pascolo: ultima decade di marzo - prima decade di novembre

- suddivisione in appezzamenti;
- turnazione del pascolo a cadenza quindicinale;
- pulizia del pascolo mediante trinciatura;
- solo concimazione organica derivante dalle deiezioni degli animali al pascolo.

Prato-pascolo

- effettuazione di uno sfalcio nella prima decade di maggio;
- suddivisione in appezzamenti;
- inizio pascolo dalla prima decade di giugno;
- turnazione del prato-pascolo a cadenza quindicinale;
- pulizia del prato-pascolo mediante trinciatura;
- fine pascolo prima decade di novembre;
- concimazione organica con deiezioni degli animali al pascolo e letamazione (25 t/ha).

Prati permanenti

- concimazione con 0,3 t/ha di Bioilsa (N 12,5%) - Ultima decade di marzo;
- trinciatura primaverile del cotico erboso, ultima decade di marzo;
- strigliatura e arieggiamento cotico, 1° decade di aprile;
- maggio/giugno: primo sfalcio, raccolta, pesatura prodotto e controllo umidità;
- luglio/agosto: secondo sfalcio, raccolta, pesatura prodotto e controllo umidità;
- settembre: eventuale terzo sfalcio, raccolta, pesatura prodotto e controllo umidità;
- novembre: concimazione con letame maturo 20-25 t/ha.

Prati avvicendati (in rotazione con cereali)

- semina in bulatura su frumento nel mese di marzo di erba medica o trifoglio;
- 1° sfalcio ultima decade di luglio (un mese dopo raccolta cereale);
- trasemina su sodo di essenze graminacee, entro la metà di agosto;
- 2° sfalcio seconda metà mese di settembre;
- mese di novembre concimazione con 20 t/ha di letame;
- nell'anno successivo esecuzione delle operazioni come per i prati avvicendati.

Risultati

La produzione dei prati permanenti ed avvicendati, considerando tre sfalci annuali, risulta mediamente compresa tra 5 e 7 t/ha di fieno di buona qualità. Le quantità complessive sono interamente utilizzate per l'alimentazione del bestiame aziendale.

Veneto Agricoltura, Università degli Studi di Padova, Università di Milano

L'utilizzazione dei terreni di montagna è condizionata da un territorio che dal punto di vista agricolo è sfavorevole e non assicura, in molti casi, redditi sufficienti né costanti. Ciò ha provocato negli ultimi anni una progressiva riduzione del numero di aziende e di superfici occupate, con gravi ripercussioni sulla tutela e salvaguardia ambientale oltre che sullo sviluppo socio economico del territorio. Gli operatori rimasti nel settore primario devono orientare sempre di più i loro sforzi su produzioni di nicchia, puntando sulla qualità dei prodotti ottenuti, sulle produzioni biologiche o integrate e sviluppando, quando possibile, la multifunzionalità dell'azienda (agriturismo, fattoria didattica, ...). In questa ottica anche la coltivazione di piccole superfici a piante officinali può rappresentare, per un'azienda di montagna, una valida opportunità per integrare il proprio reddito.

Alla luce di queste considerazioni Veneto Agricoltura ha destinato una superficie dell'azienda "Villiago" (circa 2.500 m²) alle prove di coltivazione di piante officinali per verificare la possibilità di sviluppare una piccola filiera di prodotti da piante officinali (taglio tisana e miele), verificando nel contempo l'adattabilità e le modalità di coltivazione più razionali di alcune specie, individuandone la tempistica di raccolta e valutando la qualità dei prodotti ottenuti. Tutto ciò al fine di poter creare per le aziende di montagna venete una opportunità per integrare il reddito aziendale troppo spesso limitato ed aleatorio.

L'attività, ormai conclusasi, è stata coordinata da Veneto Agricoltura con la collaborazione delle Università di Padova e Milano.

Attività e risultati

La coltivazione delle piante officinali, avviata nella primavera del 2007, negli anni ha interessato circa 25 diverse specie tra annuali e perenni, la maggior parte delle quali prodotta direttamente in ambiente protetto utilizzando seme acquistato da un vivaio specializzato. Sulle diverse specie sono stati effettuati rilievi fenologici e distillazioni sul fresco per poterne definire la resa in olio essenziale. Parte del materiale raccolto è stato essiccato, mondato, macinato e inviato al laboratorio che ne ha effettuato le analisi per determinare due potenziali nuovi marcatori di qualità delle produzioni officinali, il contenuto di fenoli



totali e la capacità antiossidante. La ricerca ha dimostrato che i valori di fenoli totali ottenuti sono più elevati di quelli riportati in bibliografia.

Anche il miele ricavato dalle arnie che a inizio stagione erano state collocate presso l'impianto è stato sottoposto all'analisi melissopalino-logica, che identifica in termini quali-quantitativi i pollini presenti nel miele, e alla determinazione del contenuto di fenoli totali e l'attività antiossidante. I risultati ottenuti hanno dimostrato la buona qualità e l'elevato valore salutistico del prodotto.

Sul materiale vegetale secco sono state anche eseguite delle analisi microbiologiche allo scopo di verificarne la sanità e quindi la correttezza igienica del processo di ottenimento. I risultati sono stati soddisfacenti in quanto il campione inviato al laboratorio non ha rivelato problemi.

La ricerca ha consentito anche l'ideazione e la costruzione da parte dell'Università di Padova di un essiccatore sperimentale mobile in legno, con un volume di caricamento di 1 m³ pari a circa 6 kg di materiale fresco, pensato e realizzato per essere trasportato e utilizzato direttamente in campo. L'aria esterna viene riscaldata attraversando un convogliatore vetrato apposito, posto a sud rispetto alla struttura, e collegato attraverso una apertura larga 1 m e alta 10 cm alla camera di essiccazione. In considerazione della frequente lontananza di fonti di allacciamento elettrico nelle aree di coltivazione, il prototipo è dotato di un pannello solare che fa funzionare un aspiratore che forza il normale moto ascendente all'interno della camera di essiccazione. L'aria che entra a temperatura ambiente viene riscaldata di alcuni gradi; passando nella camera di essiccazione attraversa il prodotto fresco, perde in temperatura circa un paio di gradi e preleva umidità. In una prova su timo è stato dimostrato che l'essiccatore consente una perdita di umidità, nella prima parte del processo, molto più veloce rispetto alla tecnica tradizionale di essiccazione all'aria pur rimanendo la quantità di acqua finale ceduta dal substrato pressoché identica.

L'attività divulgativa ha previsto la redazione di schede colturali, l'organizzazione di giornate dimostrative in campo e di un corso di formazione indirizzato a tecnici e agricoltori.

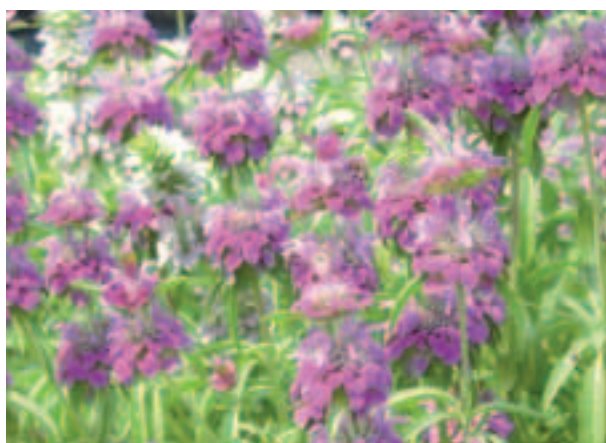
È stato accertato che i canali tradizionali di distribuzione prendono in considerazione solo grossi quantitativi e con possibilità di forniture costanti nel tempo, per cui l'unica possibilità per la piccola azienda di ottenere una retribuzione adeguata è la vendita diretta, perseguibile se l'azienda si trova lungo arterie stradali ad alta percorrenza o già conosciuta per la vendita di altri prodotti aziendali. Raccolta ed essiccazione rappresentano momenti molto impegnativi in termini di manodopera anche per la tempestività richiesta quindi l'attività non è consigliabile ad aziende che operano con salariati, mentre può costituire una discreta fonte di reddito per l'impresa diretta coltivatrice (qualora esistano degli spazi di disponibilità di manodopera nel periodo estivo) e per l'azienda che disponga di ambienti idonei e sia in grado di commercializzare direttamente il prodotto ottenuto (eventualmente anche lavorato presso terzi).

I numerosi risultati ottenuti sono già stati oggetto di presentazione e sono consultabili al link:

<http://www.venetoagricoltura.org/content.php?IDX=6&SIDX=97>



Essiccatore sperimentale



FRUMENTO TENERO ED ORZO: confronto varietale parcellare con tecniche biologiche (PSR - Misura 214/c)

Veneto Agricoltura, CRA di S. Lodigiano – sezione frumento tenero

Obiettivo della prova

Verifica del comportamento agronomico-produttivo e delle caratteristiche qualitative di alcune cultivar di frumento tenero coltivate con tecniche biologiche. Tale sperimentazione rientra in una rete nazionale di riferimento coordinata dal CRA (ex Istituto Sperimentale per la cerealicoltura di Sant'Angelo Lodigiano) e viene condotta in collaborazione con altre regioni.

I risultati ottenuti dalle prove condotte si prefiggono di valutare il grado di adattamento delle varietà nei diversi areali di coltivazione, nonché di dare delle indicazioni sui materiali sementieri da utilizzare nella nuova campagna agraria.

In questa annata accanto alla prova di frumento biologico sono state provate alcune varietà di orzo per uno scopo dimostrativo, utilizzate nella zona e fornite dalla cooperativa "La Fiorita" di Feltre (BL).

Descrizione del protocollo

Sedici varietà di frumento tenero disposte secondo un disegno sperimentale a graticcio bilanciato, in base al quale ogni varietà è stata seminata su parcelle di 10 metri quadrati replicate 3 volte.

Quattro varietà di orzo coltivato su parcelle di 20 metri quadrati e replicate 3 volte.

Terreno: medio impasto con scheletro

Precessione: mais

Lavorazione: aratura, erpicatura

Semina: 2 novembre 2011 per i frumenti e 18 ottobre 2011 per gli orzi

Densità semina: 450 semi germinabili/m² per i frumenti e 350 semi germinabili/m² per gli orzi

Concimazione di copertura: Bioilsa 350 kg/ha il 17 febbraio 2012 + Bioilsa 600 kg/ha il 26 marzo 2012

Diserbo post-emergenza: strigliatura ripetuta il 27 marzo 2012

Raccolta: 11 luglio 2012

Rilievi: fittezza spigatura, altezza pianta, malattie fungine, produzione, umidità della granella e peso ettolitrico, peso di 1000 semi.

Varietà in prova 2011-2012

Frumento tenero

	Varietà	Classe qualitativa	Ditta distributrice del seme
1	ARABIA	FB	APSOV
2	BLASCO	FPS	CONASE
3	BANDERA	FP	FLORISEM
4	ZANZIBAR	FP	FLORISEM
5	S. PASTORE	FB	FMB
6	SALMONE	FF	FMB
7	SIRTAKI	FP	ISTA
8	SOLEHIO	FP	ISTA
9	AKAMAR	FP	Limagrain
10	ANFORETA	FP	PROSEME
11	APOTEOSI	FPS	SIS
12	BRAMANTE	FB	SIS
13	MANTEGNA	FB	SIS
14	MASACCIO	FP	SIS
15	TIEPOLO	FPS	SIS
16	BOLERO	FP	Venturoli

Legenda: FF = Frumento di forza; FPS = Frumento panificazione speciale; FP = Frumento panificabile; FB = Frumento da biscotti; FAU = Frumento altri usi.

Orzo

	Varietà
1	Varietà locale
2	VAREN
3	SCARLETT
4	BELLUNESE



Risultati

Nome Varietà	Produzione t/ha	Umidità granella (%)	Peso ettolitrico kg/hl	Peso 1000 semi (g)	Data spigatura gg da1-4	Altezza pianta (cm)
S. PASTORE	8,1	15,3	74,9	39,2	47	109
AKAMAR	7,27	15,2	70,3	34,2	52	89
BRAMANTE	6,69	15,2	73	34,5	54	84
MANTEGNA	6,63	14,4	69	36,8	57	85
ANFORETA	6,54	13,9	72	37,3	48	105
SOLEHIO	6,31	15,1	69,8	37,1	54	88
APOTEOSI	6,22	14,8	71,4	35,1	53	88
ZANZIBAR	6,16	14,7	65,5	32,9	52	89
TIEPOLO	6,14	13,8	70,1	34,4	54	82
SIRTAKI	6,08	14,5	65,1	36,5	57	81
BANDERA	5,98	14,9	67,2	33,5	49	77
BOLERO	5,76	14,6	71	34,7	55	82
ARABIA	5,75	15,3	69,5	35,5	52	87
MASACCIO	5,62	14,1	66,5	31,7	52	84
BLASCO	5,42	14,9	72,9	32,8	54	81
SALMONE	5,32	14,1	69	31,2	54	82

MEDIA	6,25	14,67	69,83	34,84	52,77	87,21
CV	10,85	4,25	2,98	4,07	1,33	2,64
DMS (P<0,05)	1,39	1,25	4,18	2,91	1,44	4,62

Le migliori varietà di frumento tenero sono state S. Pastore ed Akamar, con rese rispettivamente pari a 8,1 e 7,27 t/ha. Tali dati sperimentali devono trovare conferma con altre sperimentazione nei prossimi anni.

Nome Varietà	Produzione t/ha	Umidità granella (%)	Peso ettolitrico kg/hl	Data spigatura gg da1-4	Altezza pianta (cm)
Varietà locale	4,33	12,7	55,2	42	103
VAREN	2,69	12,3	54,2	40	97
SCARLETT	2,26	13,2	49,3	55	87
BELLUNESE	1,48	12,2	51,6	50	127

MEDIA	2,69	12,6	52,6	47	103
CV	35,13				
DMS (P<0,05)	1,70				

A causa della forte variabilità tra le parcelle (coefficiente di variazione = 35%) dovuta a forti fenomeni di allungamento i dati non possono essere generalizzabili e devono trovare conferma in ulteriori sperimentazioni. I numerosi risultati ottenuti nel 2011 sono già stati oggetto di prima presentazione al seminario del **27 febbraio 2012** e sono consultabili tramite il Bollettino Colture Erbacee al link:

<http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3924>



Fasi della raccolta.

PROGETTO DIGESTATO: valorizzazione agronomica dei materiali derivanti dal trattamento anaerobico della FORSU

**Veneto Agricoltura, La Dolomiti Ambiente S.p.A.,
Università degli studi di Padova (DAFNAE), ARPAV**

Obiettivi della prova

La possibilità di riutilizzo dei materiali derivanti dai processi di trattamento dei rifiuti è un'opportunità importante sia a livello nazionale sia europeo in attuazione del principio comunitario di favorire le attività di recupero rispetto a quelle di trattamento/smaltimento.

Soluzioni che consentano di chiudere nel terreno il ciclo della sostanza organica, facendo diventare i rifiuti derivanti dalla raccolta differenziata non un onere ma una risorsa, possono consentire un grande vantaggio per la collettività (riduzione dei costi di smaltimento, depurazione, trasporto).

Nel caso specifico, il materiale oggetto di valutazione agronomica è il digestato, prodotto derivante dal processo di digestione anaerobica condotto nell'impianto di trattamento dei rifiuti urbani gestito dalla società Dolomiti ambiente e situato in loc. Maserot nel comune di S. Giustina Bellunese.

Dal processo di digestione anaerobica della FORSU (frazione organica dei rifiuti urbani) si ottengono, oltre all'energia elettrica e termica e al materiale solido che diventerà compost, anche il **digestato**, cioè l'effluente in uscita dal processo di digestione anaerobica. Si tratta di un materiale caratterizzato da un certo grado di stabilizzazione e potere fertilizzante, essendo ben dotato di elementi nutritivi quali l'azoto, il fosforo e il potassio. Caratteristica comune a tutti i digestati è la maggior quota di azoto sotto forma ammoniacale rispetto alle matrici d'ingresso. Questa caratteristica, se da un lato comporta una potenziale maggiore efficienza d'utilizzo da parte delle colture, dall'altro però presuppone una maggiore attenzione alle epoche e modalità di distribuzione per evitare perdite in atmosfera di ammoniaca.

Pertanto in sintesi **l'obiettivo finale** è quello di individuare tecniche e creare condizioni per un utilizzo proficuo, senza effetti collaterali, del digestato liquido nell'area circostante all'impianto di compostaggio di Maserot di Dolomiti Ambiente S.p.A. fornendo anche gli elementi per la registrazione del digestato come ammendante e definendo linee guida per l'utilizzo in generale dei materiali. Questo valutando gli effetti della distribuzione del digestato sulle principali colture utilizzabili, sui terreni considerati, sulle acque e altri parametri ambientali (microflora e fauna del terreno). Nell'ambito del lavoro sul digestato si promuoverà ulteriormente con prove dimostrative, anche su prati, l'utilizzo, già da anni studiato del compost.

Descrizione del protocollo

Il protocollo generale prevede sperimentazioni in laboratorio, condizioni semi-naturali e pieno campo nell'arco di 3 anni. Le attività sono iniziate nel maggio 2012 in laboratorio e pieno campo.

Laboratorio

Sono stati effettuati test di fitotossicità con lo scopo di studiare la risposta delle piante al digestato consistenti nella valutazione della germinabilità e crescita di semi di erba medica (varietà Classe - CONASE), frumento (varietà Valbona - SIS) e mais (NK Famoso - Syngenta) su suolo dell'azienda biologica di Villiago (Veneto Agricoltura) addizionato con digestato proveniente da FORSU. In dettaglio, lo schema operativo tutt'ora in corso prevede l'esecuzione di tre prove sperimentali principali. Nella prima è stata valutata la percentuale di germinazione e accrescimento della parte ipo- ed epigea delle colture sopraelencate, che sono state esposte in capsule Petri a dosi di digestato tal quale in grado di apportare tra gli 85 e i 340 kg N ha⁻¹. Da questa prova, è stata selezionata la coltura più sensibile da utilizzare per le prove successive.

La seconda prova ha avuto lo scopo di valutare il grado di tossicità dell'ammendante in funzione del tempo. Essa è consistita nella valutazione della percentuale di germinazione e accrescimento della parte ipo- ed epigea della coltura prescelta sul terreno ammendato con digestato invecchiato per diversi periodi in capsule Petri. In una terza prova, ancora da svolgere, sarà poi esaminato l'effetto del digestato su piante cresciute in vaso in ambiente controllato. Con l'idea di esaminare l'effetto del digestato per periodi più prolungati, la stessa coltura sensibile, selezionata per la seconda prova, verrà coltivata su vasi

contenenti quantità di digestato (principalmente verranno testate le dosi 170 e 340 kg di N per ettaro) e l'effetto sullo sviluppo vegetale sarà paragonato con piante cresciute su vasi contenenti la stessa quantità di N, ma apportata da un concime convenzionale.

Fase 1: test di germinazione

Per le prove di germinazione sono state seguite le linee guida del protocollo OECD 2006. In particolare, diverse capsule Petri da 15 cm di diametro, opportunamente sigillate da parafilm per minimizzare la perdita di acqua, sono state usate per seminare tra i 10 e i 20 semi sani e di dimensioni uniformi di erba medica, frumento e mais. Nelle capsule Petri il substrato di crescita era costituito dal suolo proveniente dall'azienda agraria di Villiagio, opportunamente setacciato (2 mm) ed essiccato all'aria. Il suolo è stato poi addizionato con varie concentrazioni di digestato, da 85 a 340 kg N ha⁻¹. Altre capsule Petri sono state mantenute con solo suolo per avere un controllo (Tabella 1). In seguito alla semina delle tre colture selezionate, le capsule Petri sono state addizionate con opportune quantità d'acqua, necessaria alla fase di germinazione, e riposte al buio per 5 giorni in una cella di crescita dove la temperatura veniva mantenuta intorno ai 23 °C.

Alla fine dei 5 giorni, tempo necessario per ottenere i primordi radicali ed epigei, le plantule sono state analizzate per percentuale di germinazione, lunghezza di radice e stelo (un esempio è illustrato in Foto 1). In questo protocollo il seme veniva considerato germinato quando risultavano visibili i primi 3 mm di radice primaria. Questa prova ha previsto un utilizzo di un numero di repliche uguale a 4 per ogni tesi sperimentale.



Foto 1. Esempio di piantine di erba medica germinate dopo 5 giorni (foto di A. Furian).

Tabella 1. Test di germinazione.

Tesi controllo	Tesi 85 kg N ha ⁻¹	Tesi 127 kg N ha ⁻¹	Tesi 170 kg N ha ⁻¹	Tesi 255 kg N ha ⁻¹	Tesi 340 kg N ha ⁻¹
Erba medica + suolo	Erba medica + suolo + digestato 85 kg N ha ⁻¹	Erba medica + suolo + digestato 127 kg N ha ⁻¹	Erba medica + suolo + digestato 170 kg N ha ⁻¹	Erba medica + suolo + digestato 255 kg N ha ⁻¹	Erba medica + suolo + digestato 340 kg N ha ⁻¹
Frumento + suolo	Frumento + suolo + digestato 85 kg N ha ⁻¹	Frumento + suolo + digestato 127 kg N ha ⁻¹	Frumento + suolo + digestato 170 kg N ha ⁻¹	Frumento + suolo + digestato 255 kg N ha ⁻¹	Frumento + suolo + digestato 340 kg N ha ⁻¹
Mais + suolo	Mais + suolo + digestato 85 kg N ha ⁻¹	Mais + suolo + digestato 127 kg N ha ⁻¹	Mais + suolo + digestato 170 kg N ha ⁻¹	Mais + suolo + digestato 255 kg N ha ⁻¹	Mais + suolo + digestato 340 kg N ha ⁻¹

Fase 2: tossicità del digestato in base al suo invecchiamento

La seconda fase della sperimentazione in laboratorio è consistita nel ripetere a grandi linee le procedure di crescita adottate nella fase 1, con le differenze che i) è stata scelta la coltura più sensibile alla presenza del digestato, ii) questa è stata fatta germinare sul suolo addizionato con la concentrazione più alta dell'ammendante e iii) il digestato è stato somministrato in vari momenti, in base al suo grado di maturazione in capsula Petri al buio e alla temperatura di 23 °C.

In dettaglio, in un primo passo le tesi trattate sono state ammendate con digestato fresco (0 giorni), e in momenti successivi con digestato invecchiato in capsule petri al buio a 23 °C per, rispettivamente, 5, 10, 15 e 25 giorni, allo scopo di monitorare variazioni della tossicità di quest'ultimo tra le diverse fasi tempo-

rali (Tabella 2). Brevemente, le capsule Petri, contenenti solamente suolo nel caso del controllo e suolo addizionato alla dose di digestato in grado di apportare 340 kg N ha^{-1} , sono state poste in condizioni climatiche controllate (ovvero al buio per 5 giorni a 23°C). Al termine dei 5 giorni di trattamento sono stati valutati i seguenti parametri: percentuale di germinazione, lunghezza di radice e stelo. Anche in questo caso le repliche adottate per ogni tesi sono state 4.

Tabella 2. Seconda prova sperimentale. Utilizzo di dosi di digestato in grado di apportare 340 kg N ha^{-1} al suolo, lasciate maturare per, rispettivamente, 0, 5, 10, 15 e 25 giorni.

Tempo di invecchiamento del digestato					
0 giorni	5 giorni	10 giorni	15 giorni	20 giorni	25 giorni
Suolo	Suolo	Suolo	Suolo	Suolo	Suolo
Digestato 340 kg N ha^{-1}	Digestato 340 kg N ha^{-1}	Digestato 340 kg N ha^{-1}	Digestato 340 kg N ha^{-1}	Digestato 340 kg N ha^{-1}	Digestato 340 kg N ha^{-1}

Condizioni semi-naturali (cassoni isolati all'aperto)

Per verificare l'efficacia fertilizzante del materiale testato si è confrontato in cassette di crescita il digestato derivante da FORSU con il concime organico ordinario nella coltivazione di mais verificando anche l'effetto ammendante sul terreno, in quanto migliorativo delle caratteristiche fisico-chimiche e microbiologiche nonché l'assenza di impatto sull'ambiente, ed in particolare sulle acque di percolazione.

Come prova preliminare alla sperimentazione in campo per l'utilizzo agronomico del digestato da FORSU si è effettuata la coltivazione di mais su cassoni-bins fino a maturazione fisiologica utilizzando come substrato il terreno di provenienza aziendale. L'obiettivo della prova è la valutazione dell'effetto della concimazione con il digestato sulla coltura di mais, in comparazione con il concime organico impiegato ordinariamente in azienda, e gli effetti sulle acque di percolazione, nonché sul terreno ospitante la coltivazione. A tal fine si procede a monitorare (dopo ogni pioggia significativa) la qualità dell'acqua reflua proveniente dalle vasche di sgrondo, nonché del terreno mediante le analisi effettuate preliminarmente e successivamente alla coltivazione del mais.

Tesi a confronto:

- 1) Concime organico BIOILSA (N 12,5%) 170 kg N/ha (60% pre-semina, 40% in copertura)
- 2) Digestato puro 170 kg N/ha (60% pre-semina, 40% in copertura)
- 3) Digestato puro 340 kg N/ha (60% pre-semina, 40% in copertura)

Preparazione cassoni: 17 maggio 2012 riempimento cassoni di terra per 35-40 cm di profondità

Concimazione di fondo (60% N): 17 maggio 2012 distribuzione Bioilsa e digestato e interrimento manuale a 2-3 cm di profondità

Concimazione di copertura (40% N): distribuzione Bioilsa e digestato con interrimento manuale in solchi lateralmente alla fila di mais (profondità 1-2 cm)

Semina: 18 maggio 2012 a postarelle di 3 semi e successivo diradamento (investimento finale 8 piante/m^2)

Ibrido mais: NK Famoso

Schema sperimentale

3 tesi con 2 ripetizioni

nord

1	2	3	4	5	6
Bioilsa N = 170 R. 1	digestato N = 170 R. 1	digestato N = 340 R. 1	Bioilsa N = 170 R. 2	digestato N = 170 R. 2	digestato N = 340 R. 2

Rilievi sulle piante: accrescimento, sviluppo pianta e spiga, accrescimento e peso degli apparati radicali.

Analisi della granella: Umidità, Proteine, Grassi, Ceneri; Estrattivi Inazotati, Fibra

(campione di piante trinciate e granella, mix di più sub campioni per ogni cassone)

Analisi delle acque: N totale, N nitrico, N ammoniacale, Conducibilità, pH, Sodio, Cloruri, Solfati, Fosforo totale, Boro

Metalli solo alle prime acque di sgrondo dopo la concimazione: Cadmio, Cromo tot, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Zinco, Fenoli totali

Analisi del terreno: Tessitura (solo iniziale), Sostanza Organica, N totale, P e B assimilabili, K, Mg, Ca e Na scambiabili, CSC, Conducibilità, pH,

Metalli: Cadmio, Cromo tot, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Zinco, Fenoli totali

In pieno campo sono previste simili sperimentazioni utilizzando digestato e compost in parcelloni ben caratterizzati per la struttura del terreno a confronto.

Prove di campo

Appena possibile dal punto tecnico e normativo si intende procedere in condizioni di agricoltura convenzionale e biologica a verifiche di pieno campo.

Impianto sperimentale: a strip-test con blocchi randomizzati con 2-3 ripetizioni;

Tesi a confronto: D = digestato; C = compost; O = concimazione ordinaria aziendale con concime organico commerciale; T = testimone non concimato. A seconda degli appezzamenti e le possibilità di distribuzione dei materiali le prove includeranno tutte i trattamenti o 2-3 di questi (ad es. il digestato e non il compost)

Culture considerate: quelle dell'avvicendamento a seminativo (mais-frumento-prato avvicendato più il prato permanente ed eventualmente le principali orticole della zona.

Le quantità terranno conto del limite annuale di 170 kg/ha per l'azoto distribuibile.

Piano di concimazione:

Tesi Digestato (D) e Compost (C): sostituzione di quota o del totale della concimazione azotata con il digestato da distribuire secondo indicazioni da definire sulla base degli sviluppi di cui sopra; la quantità di azoto sarà quella pari a quanto effettivamente distribuibile in base all'attrezzatura che sarà individuata e le analisi del materiale; da orientarsi su quantità vicine, se possibile, alle massime in base alle normative vigenti.

Normativa sul biologico prevede la somministrazione massima di 170 kg N/ha.

Inoltre, si tareranno i volumi di distribuzione tenendo conto dei quantitativi massimi applicabili annualmente per ettaro secondo quanto indicato dal DGRV 2241/2005 (grammi per ha per anno) riguardo i seguenti metalli: Cd, Cr tot, Hg, Ni, Pb, Cu, Zn.

Tesi Concimazione ordinaria (O): stessi quantitativi di unità di Azoto/ha della Tesi D con concimi organici pellettati nel caso dell'azienda biologica, chimici nel caso dell'azienda convenzionale.

Ipotesi di distribuzione al terreno

Periodo	Coltura/fase colturale	Unità N/ha (kg)
Autunno anno 1	Frumento presemina	70
Primavera/Estate anno 2	Frumento/Medica	80+80
Primavera anno 3	Medica pre-1° sfalcio	80
Estate anno 3	Medica post-2° sfalcio	80
Primavera anno 4	Mais presemina	70
Prim-Estate anno 4	Mais copertura	80

Valutazione effetti sulle colture

- 1) Valutazione dell'omogeneità della parcella; se vi sono zone chiaramente diverse per fattori accidentali (per esempio allettamenti da venti temporaleschi, ...) si escluderanno dai campionamenti;
- 2) Individuazione sub-parcelle: esclusione di fasce di bordo da entrambi i lati e alcuni metri alle due testate del parcellone; nel centro di ciascun parcellone si individueranno spaziate a seconda della dimensione della parcella/parcellone almeno due sub-parcelle di superficie pari a m 20 x m 3 nel caos del mais;
- 3) Osservazioni:
per tutte le colture saranno valutate densità delle colture, sviluppo, biomassa, produzione. In particolare per mais e frumento in ciascuna sub-parcella si rileveranno:

mais

emergenza: numero piante alla fase "sigari" e 3-4 gg dopo – sintomi fitotossicità (%)

Indice di fitotossicità

1 = piante normali (come testimone senza trattamento)

2 = piante più stentate rispetto alla normalità

3 = piante rossastre/gialle fortemente stentate rispetto la normalità

4 = piante morte

5 = piante non nate

investimento 6-8 foglie e finale

vigore precoce, taglia

stay green

stand ability

Rilievi alla raccolta: produzione, umidità della granella e peso ettolitrico, micotossine,

Biomassa con analisi ss e azoto con valutazione del bilancio dell'azoto

(ultimo anno anche metalli pesanti)

frumento

emergenza – sintomi fitotossicità (%)

Indice di fitotossicità

1 = piante normali (come testimone senza trattamento)

2 = piante più stentate rispetto alla normalità

3 = piante rossastre/gialle fortemente stentate rispetto la normalità

4 = piante morte

5 = piante non nate

investimento a un mese e finale

taglia

malattie

Rilievi alla raccolta: produzione, umidità della granella e peso ettolitrico, micotossine

Biomassa con analisi ss e azoto con esecuzione del bilancio dell'azoto (ultimo anno anche metalli pesanti)

Valutazione effetti sul terreno

Si prevedono:

caratterizzazione iniziale del terreno (analisi completa)

prelievo di campioni di terreno (16 punti di campionamento a parcella) a 2 profondità (-5 -35; - 35 - 60 se fattibile in base alla profondità del terreno) ed analisi di:

N totale

P e K assimilabili

Conducibilità

pH, CSC, Tessitura, Sostanza Organica

Metalli pesanti: Cadmio, Cromo tot, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Zinco

Caratterizzazione finale del terreno

Per le seguenti parcelle singolarmente (totale 11 campionamenti):

C1, D2, O3, D4, O5, O6, D7, O8, D9, O10, T11, prelievo di campioni di terreno (16 punti di campionamento a parcella) a 2 profondità (-5 -35; - 35 - 60 se fattibile in base alla profondità del terreno) ed analisi di:

N totale

P e K assimilabili

Conducibilità

pH, CSC, Sostanza Organica

Metalli pesanti: Cadmio, Cromo tot, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Zinco

Primi risultati

Laboratorio

Erba medica e mais (Figure 1 e 2) non hanno risentito della presenza delle varie concentrazioni di ammendante in termini né di percentuale di germinazione, né di sviluppo radicale. Addirittura il mais sembra aver tratto beneficio dalla dose apportante 85 kg N ha^{-1} . Il frumento (Figura 3) è risultato più sensibile alla presenza di digestato. Infatti, alle dosi più elevate di 255 e 340 kg N ha^{-1} si osserva una riduzione statisticamente significativa dell'allungamento radicale di circa il 18%.

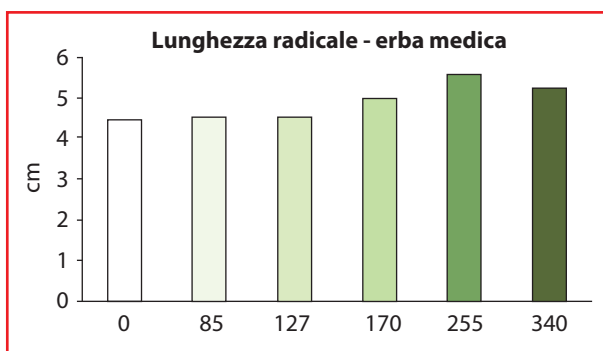


Figura 1. Lunghezza di radici di erba medica cresciuta per 5 giorni su suolo addizionato con 0 (controllo), 85, 127, 170, 255, 340 kg N ha^{-1} .

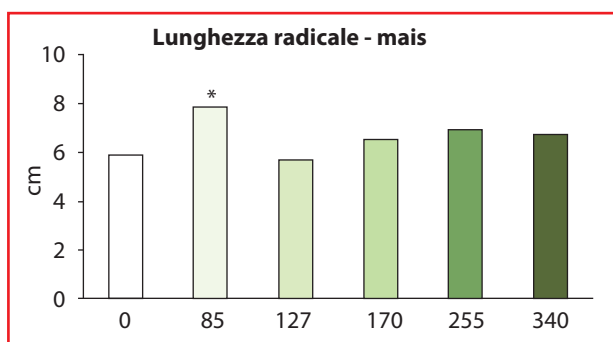


Figura 2. Lunghezza di radici di mais cresciuto per 5 giorni su suolo addizionato con 0 (controllo), 85, 127, 170, 255, 340 kg N ha^{-1} . Gli asterischi, quando presenti, indicano la differenza statistica dal controllo.

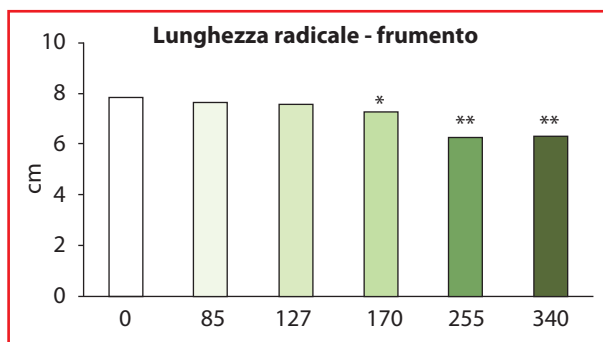


Figura 3. Lunghezza di radici di frumento cresciuto per 5 giorni su suolo addizionato con 0 (controllo), 85, 127, 170, 255, 340 kg N ha^{-1} . Gli asterischi, quando presenti, indicano la differenza statistica dal controllo.

Condizioni semi-naturali

I primi rilievi agronomici hanno evidenziato un ottimo sviluppo del mais sul terreno in cui è stato utilizzato il digestato (inizialmente anzi si è rilevato uno sviluppo più rapido con il digestato verosimilmente per la forma azotata più disponibile). Nessun problema di fitotossicità, che poteva verificarsi a causa della elevata salinità del materiale (oltre $3000 \mu\text{S/cm}$ la conducibilità elettrica del digestato tal quale) è stato riscontrato nel corso delle prove. Si vedano foto 2 e 3.



Foto 2. Cassoni-bins nelle prime fasi della sperimentazione con giovani piante di mais. La numerazione si riferisce allo schema sperimentale a pag. 14.



Foto 3. Piante di mais alla raccolta. La numerazione si riferisce allo schema sperimentale a pag. 14.

FAGIOLO DI LAMON: esperienze di coltivazione

Veneto Agricoltura, Consorzio di tutela del Fagiolo di Lamon

Obiettivi delle prove

Le prove si sono svolte in più anni con lo scopo principale di meccanizzare, almeno in parte, la coltura del fagiolo rampicante che trova limiti alla sua diffusione proprio nel notevole numero di ore di manodopera necessarie con la coltivazione tradizionale.

Le operazioni interessate alla meccanizzazione sono state le semina e il tutoraggio, l'essiccazione e la sgranatura dei baccelli essiccati.

Inoltre per la lavorazione del terreno si sono adottate tecniche di minima lavorazione, è stata provata la pacciamatura biodegradabile (Mater-Bi) e sono state collaudate tecniche di pirodiserbo.

Risultati conseguiti

È stato reperito un prototipo di macchina agevolatrice portata che consente di seminare e tutorare il fagiolo con canne disposte a capanna.

Questa apparecchiatura consente di mettere in opera 4000 sostegni, con tre uomini, in otto ore di lavoro. La resa è quindi sicuramente molto interessante, mentre i limiti sono:

- il sistema di allevamento a capanna non è il più razionale per il fagiolo,
- la necessità di diradare le piante in quanto la macchina è meccanica e non pneumatica
- impossibilità di realizzare in contemporanea alla semina, la pacciamatura.

È stato dimostrato che la pianta di fagiolo, una volta essiccata in campo, può essere imballata con le normali rotoimballatrici senza significative perdite di prodotto e conservata nel tempo se presenta una



Semina tutoratrice.

umidità finale della massa inferiore al 10%. Le balle di piante di fagiolo, qualora presentino umidità superiori, possono anche essere essiccate in un normale essiccatoio da foraggio utilizzando aria a una temperatura di 25-30 °C per tempi variabili, in relazione all'umidità di partenza. La sgranatura dei baccelli secchi può essere realizzata, oltre che con specifiche sgranatrici, anche con una normale trebbiatrice da cereali purché dotata di appositi vagli da fagiolo, riducendo la ventilazione ed evitando di trebbiare prodotto troppo secco per evitare rotture del seme.

La tecnica di minima lavorazione, realizzata con una zappa-trice, in più annate di prova, ha consentito di conseguire risultati produttivi agli stessi livelli delle lavorazioni convenzionali con tempi e consumi ridotti di circa il 50% e quindi con i correlati vantaggi economici oltre che ambientali.

La pacciamatura biodegradabile nera stesa a mano al centro e ai lati della capanna ha dimostrato un buon controllo delle infestanti e una durata sufficiente per coprire tutto il ciclo della coltura. Il successivo interrimento con una aratura superficiale ne ha provocato una completa degradazione prima della primavera successiva.

La tecnica del pirodiserbo, applicata con una attrezzatura portata dal trattore e utilizzata in azienda per il diserbo del mais, si è dimostrata di difficile applicazione per la sensibilità al calore della giovane pianta di fagiolo e alla necessità di intervenire con infestanti agli stadi iniziali di crescita. Tale sensibilità costringeva l'operatore a indirizzare il calore abbastanza lontano dalla fila di piante di fagiolo lasciando quindi una fascia non diserbata relativamente larga con conseguente notevole competizione di infestanti non devitalizzate.

I numerosi risultati ottenuti sono già stati oggetto di presentazione e sono consultabili al link: <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=347>



Prove di lavorazione e pacciamatura.



Attrezzatura per pirodiserbo.

BOVINI: produzione di carne biologica di vitello in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)

Veneto Agricoltura

L'azienda "Villiago" applica da diversi anni il metodo di produzione biologico per tutte le sue produzioni, incluse quelle zootecniche.

In ambito montano, con ampie disponibilità di terreni a prato pascolo e quindi di risorse foraggere, l'allevamento bovino da carne può rappresentare una possibile ed interessante alternativa alla produzione di latte, soprattutto nelle aziende part-time e in quelle multifunzionali. La carne bovina biologica presenta un plusvalore importante per la redditività dell'azienda agricola quando viene veicolata e commercializzata attraverso i canali della vendita diretta ai consumatori o ai ristoranti di alta qualità.

Obiettivi

Nello specifico, l'attività sperimentale e dimostrativa presente presso l'azienda "Villiago" intende valutare la sostenibilità tecnica, gestionale ed economica, della produzione di carne bovina biologica di vitello, attraverso l'allevamento di un nucleo di vacche nutrici di razza Pezzata Rossa (linea carne), utilizzando nella fecondazione un toro da carne (attualmente di razza Limousine) per la produzione di un vitello da incrocio.

Attività

Il nucleo di circa 20 vacche e un toro per la monta naturale, viene gestito per 4-5 mesi in stalla in stabulazione libera con paddock esterno (periodo invernale) e per i restanti mesi al pascolo su una superficie di circa 20 ha. I parti sono preferibilmente concentrati a inizio primavera; di norma avvengono spontaneamente senza intervento dell'operatore, ma la vigilanza è sempre consigliata soprattutto nelle primipare



Bovini al pascolo per la linea – vacca vitello.

o in presenza di parti gemellari. La Pezzata Rossa ha evidenziato in questi anni di possedere una buona fertilità, con sufficiente facilità al parto spontaneo e vitalità dei vitelli nelle prime ore dalla nascita, anche se quest'ultimo parametro è spesso influenzato dalle condizioni ambientali durante il parto stesso, dalla durata del travaglio e dal peso del vitello. L'incrocio con la razza Limousine, come già evidenziato in altre esperienze simili, produce un vitello leggero alla nascita (di peso variabile tra 38 e 44 kg), con diametro craniale ridotto (migliore facilità di parto) e di buona vitalità. L'alimentazione delle vacche è composta principalmente dall'erba di pascolo, integrata a inizio e fine stagione da fieno, o fieno-silo in funzione dell'andamento stagionale. I vitelli rimangono con le madri per tutto il periodo di pascolamento e anche al rientro in stalla a inizio inverno, la loro alimentazione è data principalmente dal latte materno, integrato gradualmente e spontaneamente dall'erba di pascolo e da cereali fioccati (mais e orzo) in piccole quantità; questi ultimi resi disponibili attraverso un alimentatore ad accesso selettivo (solo per vitelli). Uno degli obiettivi della sperimentazione rimane ovviamente la riduzione dei costi di allevamento ovvero dell'utilizzo di cereali o mangimi, sia per le vacche che per i vitelli, sfruttando al massimo le potenzialità del pascolo; infatti questi vengono macellati a un peso vivo di 350-400 kg all'età di 7-8 mesi, senza prevedere uno specifico periodo di ingrasso o finissaggio.

Risultati

I dati sperimentali di questi anni, inizialmente con la Pezzata Rossa in purezza e successivamente in incrocio hanno evidenziato come questa razza abbia una buona attitudine materna e caratteristiche idonee, soprattutto all'utilizzo del pascolo e relativa produzione di latte, per ottenere ottimi accrescimenti del vitello anche dopo i 4-5 mesi di età, quando il fabbisogno alimentare aumenta considerevolmente. L'incrocio (PR x Lim) permette di ottenere vitelli con un peso vivo superiore a parità di età, una migliore conformazione (sviluppo delle masse muscolari) al macello con una maggiore resa in carne della carcassa. La copertura adiposa e il grasso inter e intramuscolare sono di norma presenti in quantità limitata e a volte la carcassa si presenta eccessivamente magra; la composizione del grasso, inoltre, evidenzia una migliore qualità degli acidi grassi. La carne presenta un colore rosso più intenso, per un contenuto più elevato di ferro (mioglobina) se confrontata con quella classica di vitello "*a carne bianca*" da allevamento convenzionale; aspetto questo che deve essere correttamente comunicato al consumatore, non abituato a questo tipo di carne. La completa valorizzazione di questo prodotto sul mercato è però ancora legata alla possibilità di sviluppare delle microfilieri locali (allevamento-macello-disosso-distribuzione, ecc.) e canali di vendita alternativi (ad es. con la rete dei G.A.S. – Gruppi di Acquisto Solidale) o attraverso l'aggregazione di più produttori per assicurare la fornitura del prodotto durante tutto l'anno.



Carcasse di vitelli biologici ottenuti dall'allevamento di Villiagio.

I numerosi risultati ottenuti nel 2011 sono già stati oggetto di prima presentazione al seminario del **27 febbraio 2012** e sono consultabili tramite il Bollettino Colture Erbacee al link: <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3924>

SUINI: produzione di carne suina biologica in area montana (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)

Veneto Agricoltura

Nella realtà pedemontana è possibile disporre di terreni a prato o pascolo marginali che, a seguito dell'abbandono delle attività zootecniche classiche di allevamento dei bovini, non trovano attualmente un utilizzo produttivo. In queste aree è possibile, con opportuni accorgimenti, allevare suini all'ingrasso allo stato semibrado.

Obiettivi

Da alcuni anni presso l'azienda "Villiago" è in corso una attività sperimentale e dimostrativa per valutare la sostenibilità tecnica, ambientale ed economica dell'ingrasso di suini con metodo biologico allo stato semibrado.

L'allevamento-ingrasso allo stato brado di suini durante la stagione mite (da aprile a novembre, in funzione dell'andamento climatico) può rappresentare un interessante utilizzo di questi terreni, attraverso un sistema di allevamento a basso impatto, poco costoso per la sua realizzazione, con limitate esigenze in termini di lavoro e in grado di offrire una fonte integrativa di reddito alle aziende multifunzionali di montagna.

Attività

L'ingrasso di suini biologici con sistema semibrado si pratica utilizzando recinti elettrificati di aree di prato pascolo o arbustive (queste ultime si rivelano molto utili per l'ombreggiamento estivo molto ricercato dagli animali), gestendo il pascolamento dei suini in rotazione nelle diverse aree, in funzione dell'andamento climatico e della condizione del cotico erboso.

Il carico medio (numero di suini allevabili per ettaro di pascolo) va dimensionato in funzione delle condizioni del terreno nei diversi momenti di allevamento, e comunque, non deve superare i 20-22 capi per ettaro per un periodo di allevamento di circa 8 mesi/anno (da aprile a novembre).

I ricoveri utilizzati sono costituiti generalmente da capannine leggere e resistenti in vetroresina o in legno, senza fondo, facilmente spostabili da un recinto all'altro.



Area recintata per l'allevamento suini.

L'alimentazione si basa sull'uso con miscele aziendali di cereali (orzo, mais) crusca e farine proteiche (di pisello o pannello di soia) oppure di un mangime completo; in entrambi i casi la composizione nutrizionale della razione va bilanciata in base al peso dei suini e all'accrescimento desiderato. La distribuzione dell'alimento può avvenire utilizzando delle mangiatoie artigianali (truogoli) con una distribuzione giornaliera, oppure attraverso alimentatori specifici per questo tipo di allevamento (a volontà). In questo secondo caso la composizione della miscela di alimenti va attentamente studiata per non avere animali eccessivamente grassi al momento della macellazione. I suini ingeriscono inoltre erba e foraggi in piccole quantità, soprattutto nella fase di alimentazione razionata (cioè quando la quantità di alimento distribuita è inferiore alla capacità di ingestione). Erba e foraggi verdi hanno una benefica azione nutrizionale (apportando vitamine e fibra digeribile) e digestiva, inoltre mantengono calmi i suini riducendo l'aggressività e la competizione per l'alimento.



Salami biologici ottenuti con le carni dei suini allevati all'aperto.

Risultati

Questo sistema di allevamento, se correttamente gestito, non crea problemi di impatto ambientale e rispetta pienamente il comportamento e il benessere del suino, come richiesto dal metodo biologico. Lo stato di salute degli animali deve essere attentamente monitorato ma, nei diversi anni di esperienza, si è riscontrato come i suini allevati all'aperto presentino sempre un buon adattamento ambientale (anche alle basse temperature), e assenza di patologie respiratorie e gastrointestinali; va comunque sempre controllato nella stagione calda, il livello di contaminazione parassitaria delle feci, per valutare la necessità di uno specifico trattamento veterinario.

La qualità della carcassa e della carne di questi suini dipende, ovviamente, dal tipo genetico utilizzato (razza o incrocio), dall'alimentazione e dal peso di macellazione. Dai dati raccolti in questi anni, utilizzando un comune incrocio tra due ibridi commerciali (scrofa PIC x verro Goland) con età di macellazione di circa nove mesi e un peso vivo di 180-200 kg, si è osservata una buona qualità della carcassa, con carne sufficientemente rossa e consistente. Anche la qualità del grasso, caratteristica molto importante per produrre salami a lunga stagionatura, è risultata essere di buona qualità.

I numerosi risultati ottenuti nel 2011 sono già stati oggetto di prima presentazione al seminario del **27 febbraio 2012** e sono consultabili tramite il Bollettino Colture Erbacee al link:

<http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3924>



Utilizzo area boscata per l'allevamento dei suini.

CONSERVAZIONE E VALORIZZAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ OVINA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)

**Veneto Agricoltura, Istituto Zooprofilattico delle Venezie,
Università degli Studi di Padova (DAFNAE e MAPS)**

In Veneto negli ultimi cinquant'anni la biodiversità animale di interesse zootecnico ha subito una forte riduzione, con la scomparsa di diverse razze ovine autoctone e una forte riduzione del numero di capi delle razze ancora allevate. Per tentare di limitare il rischio di scomparsa delle 4 razze ovine venete rimaste è stata avviata dal 2001, grazie ai finanziamenti della Regione del Veneto, la costituzione di un Centro regionale di conservazione presso l'azienda pilota "Villiago".

Attualmente presso il Centro sono mediamente presenti 140 riproduttori delle 4 razze ovine venete (Alpagota, Lamon, Brogna e Vicentina o di Foza) e circa un'ottantina di giovani arieti e agnelle da rimonta.

Obiettivi

L'obiettivo principale del Centro è quello di conservare un nucleo minimo di riproduttori per ognuna delle 4 razze considerate, al fine di poter offrire agli allevatori o ad enti territoriali interessati, dei giovani riproduttori conformi allo standard di razza, iscritti al Registro Anagrafico detenuto presso l'Associazione Regionale Allevatori del Veneto (ARAV). Questa attività risulta particolarmente necessaria soprattutto per due razze a limitata popolazione (poco più di 150 riproduttori censiti) come Lamon e Vicentina o di Foza, che sono sottoposte da tempo alla perdita continua del proprio patrimonio di variabilità genetica e quindi a rischio elevato di scomparsa.

Attività

La gestione della riproduzione, l'accrescimento dei giovani agnelli/e e la valutazione dello standard di razza (caratteristiche morfologiche e produttive) nei giovani riproduttori viene pianificata e sviluppata in collaborazione con gli allevatori e altri centri di conservazione, e con il supporto scientifico di Dipartimenti MAPS e DAFNAE e IZS delle Venezie. Ogni razza è costituita da due nuclei distinti di 16-20 pecore ed almeno 7-8 arieti; un numero elevato di maschi è importante nelle monte guidate per ottenere una maggior variabilità genetica nei giovani riproduttori, limitando in questo modo il rischio di aumento della consanguineità (elevato grado di parentela) che rappresenta il vero pericolo per le popolazioni con numero limitato di riproduttori. Tutti i giovani riproduttori sono monitorati fin dalla nascita; al raggiungimento della maturità sessuale dopo 6-7 mesi, vengono valutati da esperti di razza e, se conformi allo standard, iscritti al Registro Anagrafico e marcati elettronicamente mediante l'inserimento di un bolo ruminale contenente un microchip. Inoltre, su tutti i soggetti presenti presso il Centro, viene delineato il profilo genetico mediante analisi di laboratorio con l'utilizzo di specifici marcatori del DNA, che permettono di ottenere informazioni più approfondite circa le caratteristiche intrinseche non sempre valutabili



Vicentina o di Foza



Lamon

“esternamente” attraverso la valutazione visiva dei caratteri morfologici. Tutti i soggetti sono inoltre testati per la resistenza o sensibilità potenziale a sviluppare la malattia da prioni delle pecore nota come “scrapie”.

Altro scopo del Centro è quello di informare e divulgare l'importanza della conservazione di queste razze autoctone, attraverso la partecipazione degli animali a manifestazioni fieristiche agricole in ambito regionale e nazionale, oltre ad ospitare incontri e corsi di formazione per gli allevatori interessati o per gli studenti.

Risultati

In questi anni il Centro ha completato la formazione dei nuclei di conservazione per le 4 razze autoctone e attualmente rende disponibili annualmente per gli allevatori interessati una quarantina di giovani riproduttori, agnelle e montoni, iscritti al Registro Anagrafico di razza. Presso il Centro si tengono annualmente 2-3 giornate di valutazione morfologica dei giovani animali aperte a tecnici e allevatori interessati. Inoltre, in collaborazione con altri enti territoriali e dipartimenti universitari, sono stati svolti diversi studi per migliorare le azioni di conservazione e la valorizzazione dei prodotti di queste razze. Per maggiori informazioni relativamente a questa attività si può richiedere la scheda tecnica “La Conservazione delle Razze Ovine Venete” o scaricarla dal link: <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3720>



Brozna



Alpagota

SPERIMENTAZIONE ED ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA IN FRUTTICOLTURA (PSR - Misura 214/c - 211 - 215)

Veneto Agricoltura

Il frutteto interessa una superficie di circa 2,1 ha, è costituito da impianti di melo, pero e piccoli frutti ed è concentrato nel corpo "Villiago".

Per la gestione fitosanitaria, la fertilizzazione ed il controllo delle malerbe ci si avvale di prodotti e tecniche ammessi per le produzioni con metodo biologico.

MELETO DIMOSTRATIVO DI CULTIVAR RESISTENTI ALLA TICCHIOLATURA

Obiettivo della prova

Valutazione di cultivar di melo resistenti alla ticchiolatura coltivate con metodo biologico per fornire ai produttori utili indicazioni in merito a queste tipologie di mele; non dover trattare contro la ticchiolatura, parassita fungino per il quale il frutticoltore è impegnato con un numero elevato di trattamenti antiparassitari, favorisce sicuramente la conduzione di impianti biologici e stimola, inoltre, la costituzione di frutteti di piccole dimensioni di più facile gestione fitosanitaria anche da parte di imprenditori agricoli dell'area montana.

Descrizione della prova

Confronto varietale fra 20 varietà di melo resistenti a confronto con quattro cloni di "Gala" e quattro cloni di "Fuji" per un totale di circa 1400 piante ed una superficie complessiva di 8.000 m².

	VARIETÀ	N. PIANTE
1	SANSA	120
2	ENOVÀ	77
3	GOLDEN LASA	98
4	SUMMER FREE	65
5	GOLDEN ORANGE	135
6	BRINA	79
7	FLORINA	155
8	MODÌ	40
9	PRIMIERA	155
10	DELORINA	65
11	CATARINA	91
12	ENTERPRISE	155
13	CARINA	25
14	GOLD RUSH	155
15	FUJION	10
16	GAIA	10
17	SMERALDA	10
18	GEMINI	10
19	RENOIR	10
20	Selez. A9 D7-179	10



Il meleto è stato realizzato riproducendo le medesime caratteristiche di un frutteto commerciale, il portinnesto utilizzato è l'M9, la forma di allevamento è a fusetto, il sesto d'impianto è di 1,40 m fra pianta e pianta sulla fila e di 4 m fra fila e fila, è possibile irrigare tramite un impianto a goccia.

Rilievi

Fenologici: vigoria, portamento, epoca e quantità fioritura.

Fitosanitari: valutazione della % di germogli colpiti dalla ticchiolatura per verificare l'effettiva resistenza a tale fungo ed il grado di sensibilità all'oidio, valutare la preferenzialità di attacchi da parte di afidi e carpocapsa sulle diverse cultivar in coltivazione.

Pomologici e produttivi: peso medio pianta, peso medio frutto, caratteristiche estetiche del frutto con tipologia classica schede MiPAF.

Chimiche e organolettiche: determinazione durezza, zuccheri in °Brix, acidità, succosità, dolcezza, aromi.

Risultati: sono state elaborate delle schede a carattere divulgativo per ognuna delle seguenti varietà in prova:

- | | |
|-----------------|---------------|
| • SANSA | • ENOVA |
| • GOLDEN LASA | • SUMMER FREE |
| • GOLDEN ORANGE | • BRINA |
| • FLORINA | • PRIMIERA |
| • DELORINA | • ENTERPRISE |
| • GOLD RUSH | |

Per le altre varietà si stanno completando i rilievi necessari per completare le informazioni utili alla compilazione di un giudizio finale.



Segue a titolo esemplificativo una scheda divulgativa, le altre possono essere richieste per e-mail, lettera o fax a:

**Veneto Agricoltura - Centro di Informazione Permanente - Corte Benedettina
via Roma 34 - 35020 Legnaro (PD)**

fax 049/ 8293909 - divulgazione.formazione@venetoagricoltura.org

indicando sempre Titolo - Codice e tutti gli estremi anagrafici e postali per la spedizione.



AZIENDA PILOTA E DIMOSTRATIVA VILLIAGO – SEDICO (BL)

GOLDEN ORANGE

È una golden simile ticchiolatura resistente. L'albero dotato di una vigoria media ha un portamento tipo beauty. I frutti molto omogenei, presentano un sovracoloro rosa a faccetta nella parte esposta al sole e non manifestano rugginosità. Il sapore è decisamente buono con un giusto equilibrio zuccheri-acidità. È una varietà molto sensibile ad alternanza e spesso alla raccolta sui frutti presenta zone ricoperte da fumaggine.



**Data di
raccolta:
3^ decade di
settembre**

**Sensibilità all'oidio: discreta
Resistenza agli afidi: buona**



PERETO DI CULTIVAR COMMERCIALI

Obiettivo della prova

Costituire, qualora se ne ravvisi l'esigenza, una fonte di materiale di moltiplicazione, certificato geneticamente e sanitariamente, da mettere a disposizione dei vivaisti veneti.

Il pereto, costituito con gli stessi criteri del meleto e condotto anch'esso con metodo biologico, può costituire un valido punto di riferimento per coloro che operano in agricoltura in provincia di Belluno, come modello di produzione frutticola in grado di fornire una discreta remunerazione.

Descrizione della prova

Confronto varietale fra le 6 principali varietà commerciali di pero coltivate per un totale di circa 420 piante così ripartite:

	VARIETÀ	N. PIANTE
1	ABATE FETEL	105
2	KAISER	90
3	CONFERENCE	35
4	DECANA DEL COMIZIO	70
5	WILLIAM BIANCO	50
6	RED BARTLETT	70

Inoltre, in numero più ridotto, tre piante per clone, sono presenti altre 17 varietà e/o cloni di pero, per verificarne la loro adattabilità in ambiente montano; il tutto per una superficie complessiva investita di circa 0,45 ha.

Rilievi

Fenologici: vigoria, portamento, epoca ed entità fioritura.

Fitosanitari: valutazione della validità di lotta biologica ai fini di una buona protezione nei confronti dei principali parassiti del pero, valutazione della sensibilità a clorosi derivata dall'uso del portinnesto di cotogno BA29 a confronto con piante innestate con il portinnesto franco OHF69.

Pomologici e produttivi: peso medio pianta, peso medio frutto, caratteristiche estetiche del frutto con tipologia classica schede MiPAF.

Chimiche e organolettiche: determinazione durezza, zuccheri in °Brix, acidità, succosità, dolcezza, aromi.

Risultati: è in corso l'elaborazione delle schede per singola varietà in prova, inoltre, anche a seguito del progressivo diffondersi negli ultimi anni nelle zone particolarmente vocate alla coltivazione intensiva del pero (pianura padano-veneta) del fuoco batterico "*Erwinia amylovora*", l'impianto di "Villiago" costituisce una preziosa riserva di materiale certificabile.



Frutti della varietà Conference nel frutteto sperimentale.

IMPIANTO DIMOSTRATIVO DI PICCOLI FRUTTI

È una coltivazione costituita da diverse varietà di rovo, di mirtillo, di ribes e di lampone, così ripartita per varietà:

MIRTILLO	LAMPONE	ROVO	RIBES
Blue Crop	BIFERE	Dirksen	Junifer
Patriot	Heritage	Lochness	Rovada
Brigitta Blue	Ruby	Jumbo	Blanca
Bluetta	UNIFERE		
	Glenn Moy		

Obiettivo della prova

L'impianto, costituito da piccoli filari per ogni singola specie, è stato realizzato con scopi didattico-dimostrativi al fine di evidenziare le problematiche più importanti e per suggerire le metodologie più idonee per coltivare con buoni risultati queste specie frutticole.

Rilievi

Le notevoli difficoltà iniziali, incontrate nella realizzazione degli impianti, non hanno permesso finora di effettuare adeguati rilievi; si prevede che a partire dal 2011 vengano eseguite valutazioni sulla produttività, sulla scalarità di maturazione, sulla qualità dei frutti, sulla facilità e/o difficoltà di raccolta, ecc.



Attività didattico-dimostrativa per la potatura di piccoli frutti.



Ribes rosso varietà Junifer.

PROGETTO INTERREG DIVERS

È alle fasi iniziali un nuovo progetto Interreg denominato Divers.

Obiettivo della prova

Valorizzare la biodiversità e salvaguardare l'ambiente

Azione pilota: caratterizzazione di prodotti agroalimentari provenienti dal settore frutticolo a mezzo costituzione di un campo catalogo presso l'Azienda "Villiago". Nel succitato campo catalogo verranno introdotte, oltre alle varietà di melo e pero autoctone proprie della provincia di Belluno, un limitato numero di accessioni provenienti dal germoplasma frutticolo autotono montano Friulano e Carinziano. L'obiettivo è quello di confrontare e valutare le più interessanti antiche varietà di melo e pero ancora presenti nelle aree dei partner (prov. di Belluno, Friuli Venezia Giulia e Carinzia) stabilendone la loro migliore utilizzazione, da consumo fresco o da trasformato (succhi, sidro, distillati, confetture, gastronomia in genere).

Descrizione della prova

Confronto varietale complessivamente fra 30 varietà di melo su p.i. M9 ed M26 e 10 varietà di pero su p.i. cotogno con intermedio Butirra Hardy.

Ogni varietà di melo sarà replicata ottenendo cinque soggetti innestati sul portainnesto M9 e cinque soggetti sul portainnesto M26, mentre per il pero, non conoscendone il grado di affinità con il cotogno, si moltiplicheranno sempre cinque soggetti per varietà sul p.i. Cotogno BA29, utilizzando però l'intermedio Butirra Hardy.

Rilievi

Analisi di laboratorio, rilievi fenologici e produttivi al fine di compilare apposite schede descrittive.

Panel test su prodotto fresco e su prodotti trasformati.

Effettuazione degli impianti

Autunno 2013.

Risultati precedenti

I numerosi risultati ottenuti in merito all'attività per la salvaguardia della biodiversità frutticola sono già stati oggetto di pubblicazioni (si veda il "Progetto di recupero e salvaguardia delle biodiversità frutticole del Veneto" al link: <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3137>) e presentazioni (seminario del **27 febbraio 2012** consultabile tramite il Bollettino Colture Erbacee al link: <http://www.venetoagricoltura.org/basic.php?ID=3924>).



Canada Ruzzene GM14.



Per Gnoc.

ARBORICOLTURA DA LEGNO DI PREGIO

Veneto Agricoltura

Obiettivo della sperimentazione

Valutazione di impianti specializzati per produzione di legname di pregio in ambiente collinare.

1) Arboreto da legno con noce nazionale (*Juglans regia*) e arbusti in consociazione

Descrizione protocollo

Data d'impianto: aprile 2002.

Superficie totale impianto: 0,3 ha.

La specie principale da legno, il noce comune, è consociata lungo i filari ad alcune specie di arbusti. Sono il nocciolo ed il pallon di maggio, arbusti con funzione di accompagnamento da impiegare rispettivamente su terreni asciutti od umidi.

Il terzo arbusto è il sambuco nero con funzione di specie secondaria. Produce infatti una lettiera facilmente decomponibile, dei frutti appetibili dall'avifauna e contribuisce alla continuità di copertura lungo il filare, in modo tale da impedire la crescita delle erbe infestanti e, di conseguenza, la necessità di sfalcio con riduzione dei costi di manutenzione annuale dell'arboreto.

A partire dal secondo anno vengono effettuate a carico del noce, le potature di formazione, di tipo replicativo, che gradualmente negli anni portano a fusti liberi da rami per un'altezza minima di 2,5 m.

Questa tipologia di arboreti, è infatti stata concepita per ridurre al minimo i costi di manodopera per le manutenzioni annuali. A 4 o 5 anni dalla data di impianto, grazie agli arbusti di accompagnamento e a quelli impiegati come specie secondaria, sarà possibile agire annualmente soltanto con interventi di trinciatura o sfalcio dell'erba nell'interfila e con le potature di formazione.



Tavole ottenute dalla lavorazione di tronchi di noce.

The diagram shows a 5x5 grid of trees. The horizontal distance between the first and second vertical dashed lines is 5 m, and the total horizontal distance between the first and fifth vertical dashed lines is 20 m. The vertical distance between the first and second horizontal dashed lines is 7 m, and the total vertical distance between the first and fifth horizontal dashed lines is 1,75 m. The trees are represented by green circles (labeled 1) and yellow starburst shapes (labeled 2, 3, 4). The circles are located at the intersections of the first, third, and fifth vertical dashed lines with the second, fourth, and sixth horizontal dashed lines. The starburst shapes are located at the intersections of the first, second, fourth, and fifth vertical dashed lines with the first, second, third, fourth, and fifth horizontal dashed lines. A compass rose in the bottom right corner indicates North (NORD).

N°	Nome volgare	Nome scientifico	Quantità	Funzione
1	Noce nazionale	<i>Juglans regia</i>	90	specie principale d'altofusto
2	Pallon di maggio	<i>Viburnum opulus</i>	108	specie arbustiva di accompagnamento
3	Nocciolo	<i>Corylus avellana</i>	72	specie arbustiva di accompagnamento
4	Sambuco nero	<i>Sambucus nigra</i>	90	specie arbustiva secondaria
TOTALE			360	

Taglio di piante di pregio dopo 30-40 anni; allo stato lo sviluppo dei noci è in qualche misura inferiore alle attese.

2) Arboreto da legno con latifoglie in consociazione*

Obiettivo della sperimentazione

Questo arboreto, a funzione sperimentale e dimostrativa, è stato realizzato nel giugno 1999 dal Centro Vivaistico e per le Attività Fuori Foresta di Montecchio Precalcino (VI) e cofinanziato dalla Comunità Europea tramite il regolamento 2052/88 obiettivo 5 b.

Lo scopo principale resta comunque quello di produrre legname di pregio a fine turno.

La differenza con il noceto precedentemente descritto sta nel fatto che qui la polispecificità ed anche la polifunzionalità sono più accentuate.

Infatti, le specie per la produzione di legname da lavoro sono 3 (farnia, ciliegio selvatico e frassino maggiore) e vi sono anche delle specie secondarie a portamento arboreo. La distanza nelle interfile è minore e questo fa sì che, a partire circa dal quinto anno dalla messa a dimora delle piante, la copertura formata da alberi ed arbusti sia continua su tutta la superficie e che, quindi, non sia necessario alcun intervento di sfalcio o trinciatura dell'erba. L'aspetto esteriore è quello di un bosco con relative funzioni di miglioramento paesaggistico ed ambientale.

Descrizione protocollo

Data d'impianto: giugno 1999.

Superficie totale impianto: 2 ha.

A partire dal quarto anno sono state effettuate, a carico delle specie principali, le potature di formazione di tipo progressivo, che gradualmente negli anni hanno portato a fusti liberi da rami per un'altezza minima di 2,5 m.

Tra 2 filari recanti le specie principali vi è interposto un filare con una o più specie secondarie a portamento arboreo. Queste sono il carpino bianco e l'acero campestre che saranno governate a ceduo, con turni di diversi anni con produzione di legna da ardere che, data l'elevata densità, sarà di qualità elevata. Trattandosi poi di filari singoli e diritti, l'estrazione della legna tagliata sarà oltremodo agevole con rilevanti risparmi sulla manodopera necessaria.

Le funzioni degli arbusti di accompagnamento sono le stesse del precedente arboreto.

Il turno relativo alle specie principali, sarà di circa 40 anni.

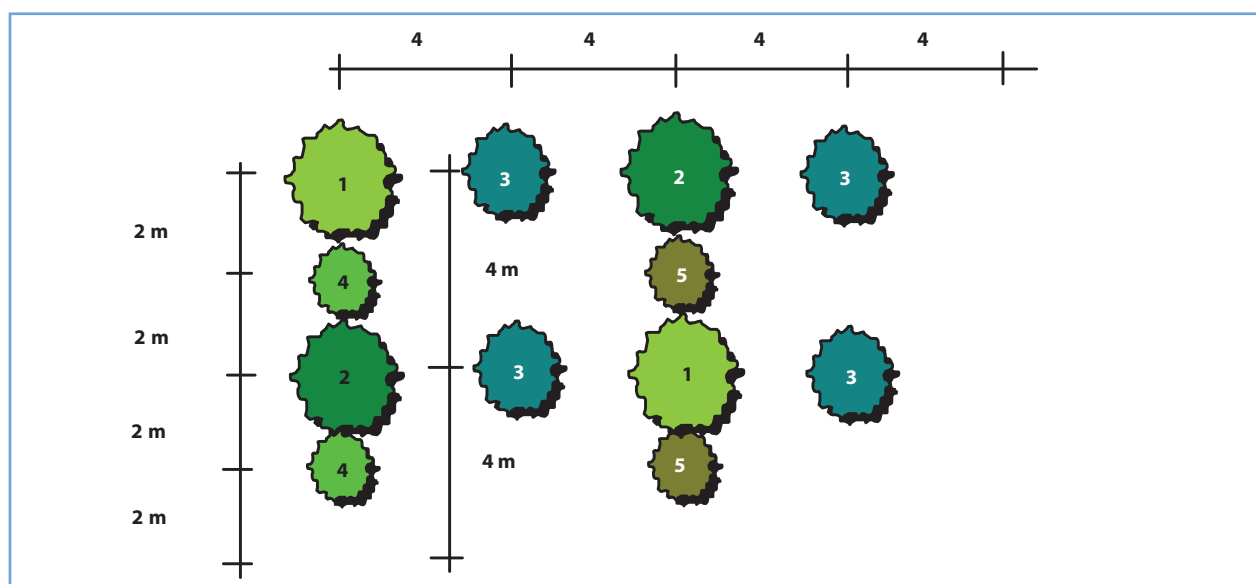


Astone di noce con protezione da selvatici.

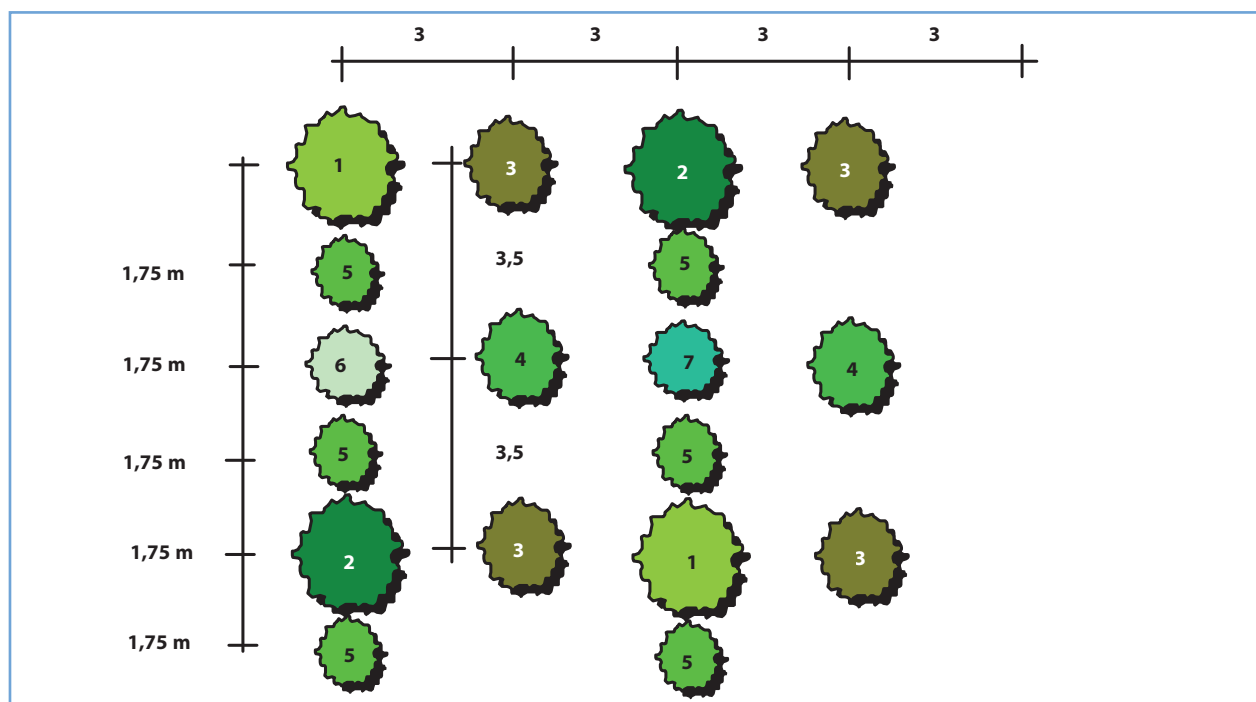
*  Questo progetto è stato cofinanziato dalla Comunità Europea
Fondo europeo agricolo di orientamento e garanzia

Schemi

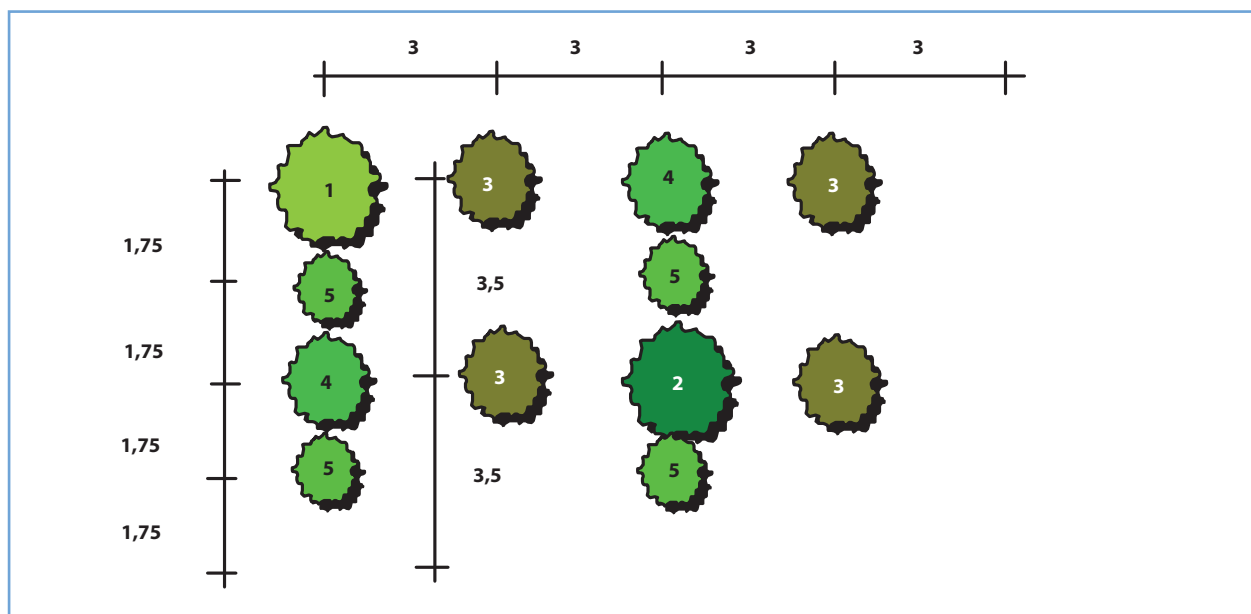
L'arboreto è costituito da 3 moduli a diversa composizione e sesto di impianto.



N°	Nome comune	Nome scientifico	Funzione
1	Farnia	<i>Quercus robur</i>	specie principale d'altofusto
2	Frassino maggiore	<i>Fraxinus excelsior</i>	specie principale d'altofusto
3	Carpino bianco	<i>Carpinus betulus</i>	specie secondaria da biomassa
4	Nocciolo	<i>Corylus avellana</i>	specie arbustiva di accompagnamento
5	Lantana	<i>Viburnum lantana</i>	specie arbustiva di accompagnamento



N°	Nome comune	Nome scientifico	Funzione
1	Farnia	<i>Quercus robur</i>	specie principale d'altofusto
2	Frassino maggiore	<i>Fraxinus excelsior</i>	specie principale d'altofusto
3	Carpino bianco	<i>Carpinus betulus</i>	specie secondaria da biomassa
4	Acero campestre	<i>Acer campestre</i>	specie secondaria da biomassa
5	Pallon di maggio	<i>Viburnum opulus</i>	specie arbustiva di accompagnamento
6	Nocciolo	<i>Corylus avellana</i>	specie arbustiva di accompagnamento
7	Sambuco nero	<i>Sambucus nigra</i>	specie arbustiva secondaria



N°	Nome comune	Nome scientifico	Funzione
1	Farnia	<i>Quercus robur</i>	specie principale d'altofusto
2	Frassino maggiore Ciliegio	<i>Fraxinus excelsior</i> <i>Prunus avium</i>	specie principale d'altofusto
3	Carpino bianco	<i>Carpinus betulus</i>	specie secondaria da biomassa
4	Acero campestre	<i>Acer campestre</i>	specie secondaria da biomassa
5	Nocciolo Pallon di maggio	<i>Corylus avellana</i> <i>Viburnum opulus</i>	specie arbustiva di accompagnamento

Risultati attesi

Allo scadere del turno, presumibilmente di 40 anni, le specie principali forniranno legname da opera. Con turni di minore durata si ricaverà invece della legna da ardere dal taglio delle file intercalari di Carpi-
no bianco e Acero campestre. Al momento gli sviluppi sono soddisfacenti.

3) Arboreto sperimentale per lo studio di alcune specie da legno

in collaborazione con:



*Istituto Sperimentale
per la Servicoltura
di Arezzo*

Obiettivo della sperimentazione

Lo scopo originario era quello di valutare l'effettiva qualità genetica di 100 cloni di *Prunus avium* individuati sul territorio nazionale; in pratica si voleva verificare in campo che il fenotipo superiore, al fine della produzione di legname da opera dimostrato dai cloni selezionati (tronco dritto, ramificazione sottile, buona dominanza apicale, ecc.), non fosse frutto solo delle particolari caratteristiche ecologiche della stazione in cui le piante erano cresciute, ma di un genotipo superiore e che questo genotipo fosse adatto anche al clima della Val Belluna.

A causa delle morie di ciliegi si è proceduto all'impianto di cloni di olmo denominati "San Zanobi" e "Plinio" e di frassino ossifillo per i quali si vuole verificare l'idoneità ai fattori climatici presenti a "Villiago", prima fra tutte la resistenza alle gelate tardive primaverili assai frequenti.

Descrizione protocollo

Data d'impianto cloni di ciliegio selvatico: primavera 1994-1996.

Data impianto cloni di olmo "grafiosi resistenti": primavera 2001.

Superficie totale impianto: 12.000 m².

Sesto di impianto: 5 x 5 m.

L'impianto venne realizzato nel marzo 1994 con la messa a dimora di 450 piante su una superficie complessiva di circa 12.000 m².

Nel marzo 1995 ci fu un intervento di completamento effettuato in parte con cloni inviati dall'Ispettorato delle Foreste di Udine ed in parte con cloni veneti.

Nell'anno 2001, in sostituzione degli individui di ciliegio morti o con scarsa vitalità sono stati messi a dimora i due cloni di olmo "grafiosi resistente" denominati rispettivamente "San Zanobi" e "Plinio" e delle piante di frassino ossifillo.

Vengono rilevati i dati di accrescimento diametrico dei fusti, verrà effettuata la potatura di formazione che, nel caso del clone "San Zanobi", dovrebbe essere particolarmente agevole da eseguire, dato il particolare tipo di ramificazione che esso presenta. Quando il diametro a petto d'uomo avrà raggiunto delle dimensioni tali da poter ritrarne assortimenti da lavoro, verranno valutate le caratteristiche tecnologiche del legno prodotto e confrontate con quelle del legno ottenuto da piante di olmo campestre od olmo montano.

Risultati attesi

La stazione si è rivelata assai poco favorevole allo sviluppo delle piante di ciliegio selvatico, molto probabilmente a causa dell'elevata umidità atmosferica che favorisce il manifestarsi di malattie fungine. Solo alcuni cloni hanno raggiunto uno sviluppo soddisfacente e, per questo motivo, terminata la propria funzione sperimentale molte piante sono state sostituite con due cloni di olmo "grafiosi resistenti" denominati rispettivamente "Plinio" e "San Zanobi" e con frassino ossifillo il cui sviluppo al momento risulta soddisfacente.

GESTIONE DEL BOSCO CEDUO ED IPOTESI DI FILIERA DEL LEGNO-ENERGIA

Veneto Agricoltura

La superficie del bosco a ceduo che rientra nei terreni di pertinenza dell'azienda "Villiago" ammonta a circa 15 ha, frazionati in più aree boscate separate.

Questi corpi sono adeguatamente serviti da una rete viaria di piste forestali, in buone condizioni, per garantire la gestione e la realizzazione di tutte le operazioni di raccolta della biomassa.

La composizione di tali formazioni è data da una prevalenza di specie nobili quali carpino bianco, frassino maggiore, quercia, olmo, accompagnate da altre specie secondarie arboree e arbustive quali nocciuolo, robinia, salice, pioppo.

Obiettivi della sperimentazione

- Applicazione di tecniche e tecnologie di raccolta della biomassa legnosa a fini energetici in linea con le vigenti norme di sicurezza sul lavoro.
- Individuazione delle corrette indicazioni colturali per la gestione dei boschi cedui.
- Valutazione tecnico-economica della corretta pratica di conduzione dei boschi cedui.
- Applicazione delle corrette pratiche dell'asestamento forestale nell'individuazione delle superfici annualmente mature per pianificarne l'utilizzazione al fine di garantire, in termini sia spaziali sia temporali, la continuità della produzione della biomassa (nel rispetto delle norme e delle prescrizioni vigenti in materia).
- Produzione di piccole e medie quantità di legna da ardere in pezzi destinate alla vendita sul mercato, in quanto in azienda attualmente non è stato ancora installato alcun impianto termico per l'autoconsumo della biomassa estratta dai propri boschi cedui.

Studio effettuato per un'ipotesi di realizzazione di filiera completa del legno-energia

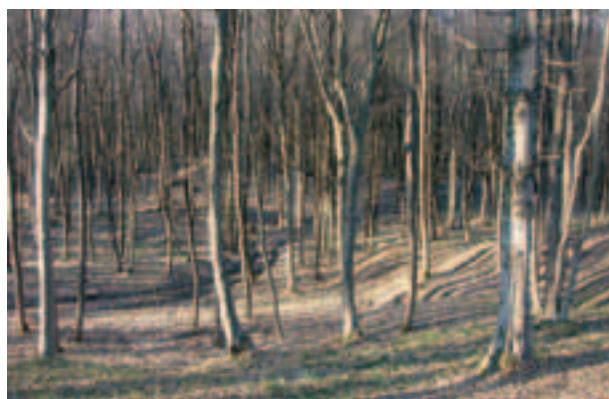
Nei mesi di giugno e luglio 2011 è stato realizzato uno studio con lo scopo di delineare la strutturazione di una filiera legno-energia presso l'Azienda Pilota e Dimostrativa "Villiago".

Nel corso di questo studio si è proceduto a un rilievo in campo di tutti i singoli impianti legnosi che fanno capo all'azienda, allo scopo di rilevarne la tipologia, le caratteristiche compositivo-strutturali, la provvigione attuale e le potenzialità produttive in termini di biomassa legnosa da energia.

Una volta effettuata questa analisi sistematica, si è proceduto a delineare una pianificazione assestamentale della raccolta della biomassa da queste formazioni, in modo da ipotizzare un programma annuale di utilizzazioni in grado di garantire una produzione continua e costante nel tempo.

Un apposito capitolo è stato dedicato alla definizione della cantieristica forestale applicabile alla raccolta e alla prima trasformazione della biomassa da energia estraibile dagli impianti aziendali e in questo contesto si è cercato di stimare il costo di produzione del legno energia annualmente estratto a partire dall'allestimento dei cantieri.

Per quanto riguarda la fase di utilizzo finale della biomassa, si è valutato il dimensionamento di un impianto termico a biomassa legnosa a servizio delle utenze ubicate presso l'Azienda.



Percorsi forestali all'interno dell'azienda.

In questo ambito si sono delineate più ipotesi, a seconda della taglia della centrale e del numero e del tipo delle utenze aziendali teoricamente alimentate dal suddetto impianto, stimando nei diversi casi la quantità di energia termica complessivamente impiegata dalle diverse utenze e di conseguenza il consumo annuo di biomassa richiesta per tale scopo.

La redazione del bilancio tecnico-economico della filiera si è conclusa con la determinazione del costo annuo di fornitura di energia termica alle utenze servite dalla centrale, proponendo un confronto tra l'utilizzo di biomassa legnosa (sia nel caso in cui essa sia auto-prodotta in azienda sia nel caso in cui essa sia acquistata sul mercato) e di combustibili fossili, vale a dire gasolio, metano o GPL (il combustibile attualmente impiegato).

Questo confronto ha permesso di valutare e quantificare la convenienza e l'opportunità della strutturazione dell'intera filiera legno-energia presso l'Azienda Pilota e Dimostrativa "Villaggio".

Alcuni risultati di questo studio sono qui di seguito brevemente riassunti:

a. ipotesi di pianificazione dei tagli

A questo scopo si sono definiti quattro orizzonti temporali per la raccolta degli impianti oggetto di analisi:

- brevissimo periodo: 0-5 anni;
- breve periodo: 5-10 anni;
- medio periodo: 10-15 anni;
- lungo periodo: oltre 15-20 anni.

Considerando questi periodi temporali è stata determinata la ripresa che complessivamente si stima di estrarre in ciascuno di questi orizzonti temporali di riferimento e successivamente la stima del prelievo annuo ritraibile.

Ci si riferisce al prelievo e alla disponibilità di cippato secco, avente contenuto idrico attorno al 30-35%. Questi dati sono riportati nella tabella seguente:

Orizzonte temporale	Ripresa estraibile nell'orizzonte temporale (m ³)	Ripresa annua riferita all'orizzonte temporale di riferimento (m ³)	Ripresa annua riferita all'orizzonte temporale di riferimento (t)
Brevissimo (0-5 anni)	306	61	46
Breve (5-10 anni)	524	105	79
Medio (10-15 anni)	231	46	35

b. ipotesi di installazione impianto termico a biomassa legnosa

In azienda attualmente sono molteplici le strutture che richiedono una fornitura di calore ed energia:

- gli uffici aziendali;
- l'impianto di essiccazione del fieno;
- la cella frigorifera (alimentata da assorbitore dedicato);
- l'impianto di stemperamento dell'acqua per gli abbeveratoi delle stalle.

La potenza complessiva necessaria per supportare tutte le strutture aziendali tenendo conto della stagionalità nella richiesta dell'energia è di circa 75 kW.

Il consumo medio annuo di biomassa stimato per l'azienda è descritto nella tabella seguente:

Utenza	Consumo di biomassa stimato (t/anno)
Uffici aziendali	16,5
Impianto di essiccazione del fieno	5,3
Cella frigorifera	7,9
Impianto di stemperamento dell'acqua per gli abbeveratoi delle stalle	Dato non calcolato direttamente; si stima sia pari a qualche unità
Totale del consumo della caldaia aziendale	35

Nella progettazione di un impianto termico di questo tipo è molto importante un adeguato dimensionamento del silos di stoccaggio cippato.

In presenza di una caldaia di potenza stimata pari a circa 75 kW e di un consumo annuo di cippato secco stimato pari a circa 35 t, si ipotizza che la tettoia presso cui è allocato il silo, abbia una cubatura di circa 30 m³ (ad esempio 5 metri di lunghezza, 3 metri di larghezza, 2 metri di altezza).

Con questo volume il silo potrà essere caricato non più di 3-4 volte l'anno.

Acquisto e installazione impianto termico aziendale

Complessivamente si stima che la spesa totale da sostenere per l'acquisto e l'installazione della centrale termica e di tutte le opere accessorie (collegamenti, opere edili, idrauliche ed elettriche comprese) si attesti sui 45.000 euro. Si tenga però presente che tale somma si ottiene solo con un silo non interrato di struttura estremamente semplice. Non viene qui considerato il costo di acquisto dell'assorbitore per la produzione delle frigoriferie che si attesta sui 40.000 euro.

CONTO ECONOMICO consumo CIPPATO - umidità 30% (M30)

Voce di costo	Unità di misura	Valore	Durata anni	Costo annuale (euro)
Acquisto caldaia 75 kW	Euro/anni	45.000,00	15	
Quota annuale di ammortamento	n			3.000,00
Manutenzioni annuali	Euro			200,00
Manutenzioni straordinarie (es. ricambi programmati di alcuni componenti della caldaia ed attrezzature accessorie)	Euro	4.000,00	15	266,67
Totale investimento	Euro	45.000,00		
ammortamento annuo	Euro			3.466,67
Capacità stoccaggio	m ³	30		
Peso (in tonnellate) di 1 m ³ di cippato	t	0,25		
Capacità di stoccaggio cippato in tonnellate	t	7,50		
Consegna unitaria tonnellate	t	7,00		
Numero consegne di cippato all'anno	n	6		
Consumo cippato tonnellate anno	t	35		
autonomia (giorni tra una consegna e l'altra)	giorni	60,83		
cippato costo euro/tonnellata - comprensivo del servizio di gestione (smaltimento ceneri, etc.)	Euro	80,00		2.800,00
totale costo gestione riscaldamento / anno	Euro			6.266,67

Nella seguente tabella si confrontano i vari costi che l'azienda dovrebbe annualmente sostenere per l'acquisto o l'ottenimento delle quantità di combustibili fossili o legnosi necessarie per il proprio fabbisogno di energia termica.

Tipo di combustibile	Costo annuo (euro)	Rapporto rispetto al cippato auto-prodotto in azienda
GPL	12.376,00	4,4
Gasolio	9.800,00	3,5
Metano	5.700,00	2,0
Cippato acquistato sul mercato	3.150,00	1,1
Cippato auto-prodotto in azienda	2.800,00	1

È stato calcolato il tempo di ritorno del capitale investito, inteso come periodo entro il quale il risparmio annuale delle spese di riscaldamento in presenza di un impianto a biomassa rispetto a un impianto a combustibili fossili copre l'investimento dell'impianto stesso.

Sulla base di queste stime si otterrebbe un tempo di ritorno rispettivamente pari a:

- 7,4 anni nel confronto con il GPL;
- 12,7 anni nel confronto con il gasolio.



Esempio di centrale termica a cippato.



Operazioni di taglio e pulizia del bosco di ceduo.

APPUNTI

[illegible]

L'azienda Pilota e Dimostrativa Villiagio si trova a circa 380 m s.l.m. e prende il nome dall'omonima frazione Villiagio del Comune di Sedico (BL). Situata nella zona di competenza della Comunità Montana Val Belluna, l'azienda si estende sulla sponda destra del fiume Piave, al centro della Val Belluna, caratterizzata da un ambiente pedoclimatico tipico del fondovalle.



COME RAGGIUNGERCI

L'azienda Pilota e Dimostrativa "Villiagio" è raggiungibile **in automobile dall'autostrada A27** (ultima uscita Belluno), seguendo le indicazioni per Belluno e percorrendo poi verso sud la S.S. 50 in direzione Feltre fino a Sedico dove al km 18 si gira a sinistra per la Frazione Villiagio a circa 2 km.

Tramite ferrovia si prende la **linea Mestre-Calalzo** scendendo alla stazione di Bribano (Frazione di Sedico - BL), che è a circa 4 km dal centro aziendale "Villiagio".

Azienda pilota e dimostrativa Villiagio

loc. Villiagio - 32036 Sedico (BL)
tel. 0437.83635 - tel. e fax 0437.838068
e-mail: villiagio@venetoagricoltura.org



9 788863 370959 >

ALLEGATO II

LA CONSERVAZIONE DELLE RAZZE OVINE VENETE



FEASR



REGIONE DEL VENETO



VENETO
AGRICOLTURA
Azienda Regionale per i settori Agricolo, Forestale e Agro-Alimentare

Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

La conservazione delle razze ovine venete



Pubblicazione realizzata all'interno delle attività di conservazione e valorizzazione della biodiversità animale sviluppate da Veneto Agricoltura e parzialmente finanziate dal Piano di Sviluppo Rurale del Veneto (PSR 2007-13 misura 214/H - Rete Regionale delle Biodiversità Agraria) Progetto CONSAVIO: *Conservazione genetica delle razze avicole e ovine autoctone*.

Autori

Valerio Bondesan, Settore Ricerca Agraria, Veneto Agricoltura, (Responsabile del Progetto);
Martino Cassandro e Nicola Tormen, Dipartimento di Scienze Animali, Università degli Studi di Padova;
Calogero Stelletta, Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università degli Studi di Padova.

Si ringrazia per la collaborazione nelle attività di conservazione delle razze ovine presso l'azienda pilota Villiagio di Veneto Agricoltura (Sedico, BL):

Silvano Cossalter e Alberto Ceccato, azienda Villiagio;

Davide Magnani, Associazione Provinciale Allevatori di Belluno;

Valerio Castagna, Associazione Provinciale Allevatori di Verona;

Maurizio Masin, Comunità Montana dell'Alpago;

Luca Fontanive, Istituto Professionale e Tecnico di Stato per l'Agricoltura e l'Ambiente "Antonio Della Lucia", Feltre (BL);

Eliana Schiavon, Franco Mutinelli, Anna Granato, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD).

Foto

Autori e Archivio Veneto Agricoltura, quando non diversamente specificato.

Pubblicazione edita da

Veneto Agricoltura

Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare

Settore Ricerca Agraria

Viale dell'Università, 14 - Agripolis - 35020 Legnaro (PD)

Tel. 049.8293711 – Fax 049.8293815

e-mail: ricerca@venetoagricoltura.org

www.venetoagricoltura.org

Realizzazione editoriale

Veneto Agricoltura

Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare

Coordinamento Editoriale

Alessandra Tadiotto, Silvia Ceroni

Settore Divulgazione Tecnica, Formazione Professionale ed Educazione Naturalistica

Via Roma, 34 - 35020 Legnaro (PD)

Tel. 049.8293920 – Fax 049.8293909

e-mail: divulgazione.formazione@venetoagricoltura.org

Iniziativa finanziata dal Programma di Sviluppo Rurale per il Veneto 2007-2013

Organismo responsabile dell'informazione:

Veneto Agricoltura

Autorità di gestione:

Regione Veneto – Direzione Piani e Programmi Settore Primario

È consentita la riproduzione di testi, foto, disegni ecc. previa autorizzazione da parte di Veneto Agricoltura, citando gli estremi della pubblicazione.

Finito di stampare nel mese di Novembre 2011
dalla tipografia Imprimenda di Limena (PD)

Introduzione

Negli ultimi 30-40 anni l'agricoltura è radicalmente cambiata sia nelle aree di pianura che di collina e montagna; la meccanizzazione massiccia, l'ampia disponibilità di concimi chimici e prodotti antiparassitari, l'utilizzo di razze o ibridi altamente produttivi, hanno reso possibili produzioni intensive, standardizzate e a basso costo. Questa evoluzione, insieme ai ben noti fenomeni socio-economici e demografici, con spostamento della forza lavoro dall'agricoltura ad altri settori produttivi (industria, artigianato e recentemente servizi) ha fortemente influenzato l'abbandono delle aree di agricoltura marginale, in particolare in montagna, e conseguentemente anche delle forme di allevamento tradizionali e meno redditizie, come la pastorizia.

In un'interessante pubblicazione di Urbano Botrè dell'Ispettorato Agrario Compartimentale delle Venetie dal titolo *"Gli Allevamenti Ovini nelle Tre Venetie"* (Udine, 1942), veniva illustrato come negli anni 30 del secolo scorso, nelle province venete fossero allevate almeno una decina di razze ovine, per lo più di origine autoctona, con una popolazione stimata di oltre 90 mila capi. Successivamente, fin dagli anni 50-60 e più drasticamente in quelli successivi, la popolazione ovina regionale si è ridotta sensibilmente; di alcune razze autoctone sono rimaste solo popolazioni molto limitate, altre si ritiene siano irrimediabilmente perse (razza Cadorina, razza Padovana, razza Noventana, razza Brentegana).

Attualmente sopravvivono solo 4 razze autoctone, con diversa condizione di criticità; questa è valutata in base al numero di capi allevati, di maschi-arieti utilizzati negli accoppiamenti e di allevamenti. Per due di queste, razza Alpagota e razza Brogna, la struttura di popolazione, pur presentando alcune criticità, ha dato segnali incoraggianti negli ultimi anni. Per le razze Lamon e Vicentina (o Foza), invece, la situazione è molto critica e non sembrano intravedersi chiari segnali di inversione di tendenza che possano portare queste popolazioni a un livello di numerosità tale da scongiurarne la scomparsa nel prossimo futuro.

Proprio per questi motivi, da diversi anni Veneto Agricoltura, su indicazione della Regione del Veneto, anche attraverso specifici progetti, ha attivato presso la propria azienda pilota per la montagna di Villiago (Sedico, Bl) un centro di conservazione di queste quattro razze autoctone, per la produzione di giovani riproduttori (agnelle e montoni) per gli allevatori interessati, oltre a sviluppare in collaborazione con altri operatori pubblici o privati ulteriori azioni a sostegno dello sviluppo dell'allevamento. La Regione del Veneto sostiene l'allevamento di que-

ste razze anche attraverso uno specifico aiuto economico diretto agli allevatori, come previsto dalla misura 214/F del Piano di Sviluppo Rurale (2007-13); questi interventi sono probabilmente destinati a proseguire anche nel prossimo futuro, in considerazione delle attuali linee di revisione della Politica Agricola dell'Unione Europea fino al 2020. Tuttavia l'entità economica limitata degli aiuti e un'eccessiva burocrazia per l'ottenimento degli stessi non aiutano ad attenuare le criticità socio-economiche che spingono continuamente diverse aziende verso la riduzione dell'allevamento di queste razze.

Ma perché è importante sostenere l'allevamento delle razze animali a limitata diffusione o a rischio di scomparsa, come le razze ovine venete?

Queste popolazioni animali autoctone, come del resto le vecchie varietà locali di ortaggi o alberi da frutto, sono il prodotto del lavoro appassionato di conservazione e selezione di molte generazioni di agricoltori e allevatori e rappresentano una specificità genetica e produttiva di cui oggi non è facile quantificare l'importanza economica, ma che probabilmente sarà molto utile nel futuro. Infatti, dall'inizio degli anni '90 ad oggi la FAO (Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura) continua a ripetere in molteplici modi come sia fondamentale, per la sicurezza alimentare delle popolazioni nel prossimo futuro, la conservazione del patrimonio di biodiversità agraria rappresentato dalle varietà locali di specie vegetali e razze animali.

Infatti, una delle maggiori sfide di questo secolo appena iniziato sarà la disponibilità di alimenti per l'umanità in una realtà mondiale condizionata dalle grandi trasformazioni in atto, che non riguardano solo i cambiamenti del clima, l'aumento della popolazione (ora già oltre i 7 miliardi), le migrazioni, ma anche la potenziale minaccia di nuove patologie animali o la ridotta produzione delle varietà vegetali finora coltivate. Quest'ultimo aspetto merita una particolare attenzione, infatti è comunemente accettato che le varietà vegetali e le razze animali locali attraverso un lungo periodo di selezione abbiano sviluppato una maggiore capacità di adattamento all'ambiente di origine e, in alcuni casi, una maggiore resistenza alle malattie. Tuttavia la biodiversità agraria non rappresenta solo un valore economico e genetico per il futuro; infatti, già oggi è possibile incontrare interessanti esempi di sviluppo agricolo-ambientale sostenibile, basati anche sulla valorizzazione delle risorse vegetali e animali locali attraverso la trasformazione e commercializzazione di prodotti tipici, attuando così una promozione del territorio nel suo insieme.

Infine non va dimenticato l'aspetto socio-culturale della biodiversità agraria, riconoscibile nel forte le-



game tuttora esistente tra le comunità rurali, le loro tradizioni e il patrimonio rappresentato dalle varietà e razze locali.

In questi scenari è quanto mai necessario che tutta la ricchezza della biodiversità vegetale e animale sia attentamente individuata, studiata, conservata e protetta, affinché il patrimonio genetico, ovvero la specificità intrinseca e le potenzialità produttive, sia reso disponibile per le generazioni future.



Le razze ovine venete

All'inizio degli anni 2000, solo 4 razze ovine autoctone erano ancora presenti sul territorio regionale: Alpagota, Lamon, Brogna, Vicentina o di Foza. Sebbene con alterne vicissitudini che ne hanno influenzato la numerosità e la distribuzione tra le diverse aree, tali razze sono tuttora allevate.

Considerata la loro limitata diffusione, ovvero presentano di norma una popolazione numericamente esigua e localizzata principalmente nell'area di origine, il MIPAAF (Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali) ha autorizzato, sulla base della normativa vigente, l'attivazione del **Registro Anagrafico di razza** (Legge n. 30 del 15.01.1991, Decreti Ministeriali n. 21251 del 28.03.1997, n. 23864 del 14.11.2002, ecc.). Nel Registro Anagrafico, come si può facilmente comprendere dal nome, si iscrivono gli animali appartenenti alla razza (in due distinte sezioni, una per il giovane bestiame e una per i riproduttori maschi e femmine), gli allevamenti, e soprattutto, attraverso lo **standard di razza**, vengono definite le caratteristiche morfologiche specifiche della popolazione. Il Registro rappresenta quindi lo strumento di base per la conservazione e tutela delle razze a limitata diffusione. La gestione a livello nazionale dei Registri Anagrafici ovini e caprini è stata affidata ad Assonapa (Associazione Nazionale della Pastorizia), la quale si avvale nelle diverse Regioni dell'attività delle locali associazioni provinciali o regionali degli allevatori,

per i compiti di individuazione degli allevamenti, valutazione dei soggetti da iscrivere e inserimento di questi nel Registro Anagrafico. L'iscrizione di un animale al Registro Anagrafico avviene sempre previa acquisizione di informazioni sull'origine dello stesso (padre-madre) e successiva valutazione morfologica da parte di un esperto della razza, che verifica la corrispondenza delle caratteristiche dell'animale a quanto previsto dallo standard di razza. L'esperto di razza può essere un allevatore o un tecnico, riconosciuto a livello regionale e nazionale (Albo esperti di Assonapa) che abbia maturato una buona conoscenza sullo standard morfologico della razza e sugli indirizzi per la conservazione della stessa, anche attraverso specifici corsi di approfondimento. La valutazione morfologica dei giovani riproduttori è quindi un momento molto importante, perché permette di eliminare i soggetti portatori di difetti gravi o di caratteri estranei allo standard di razza.

Nelle popolazioni ovine a limitata diffusione, come quelle considerate, non tutti gli allevatori comprendono pienamente l'importanza dell'iscrizione dei loro soggetti al Registro Anagrafico e l'utilità di questo strumento per la loro attività. Al fine di sostenere l'ampio utilizzo del Registro Anagrafico, gli allevatori dovrebbero essere continuamente informati sugli scopi e benefici di tale strumento, e andrebbero rimosse le complicazioni burocratiche conseguenti all'iscrizione.

Ma cosa si intende per **standard di razza**?

Quando viene approvato e attivato il Registro Anagrafico di una razza ovina, oltre alle informazioni relative alle sue origini e alla diffusione sul territorio, vengono indicati e descritti i principali **caratteri morfologici, biometrici e riproduttivi** specifici dei soggetti appartenenti alla popolazione considerata. Tutti questi parametri sono di norma indicati nel Decreto del MIPAAF che autorizza l'attivazione del Registro Anagrafico di ogni razza.

Caratteri morfologici

Considerano la struttura e la morfologia degli animali nel complesso (es. la taglia) o attraverso l'osservazione puntuale delle diverse regioni anatomiche del corpo: testa, collo, tronco, arti, unghie, vello, pelle e mucose. Vengono inoltre indicati eventuali difetti, ovvero caratteri la cui presenza prelude l'iscrizione al Registro Anagrafico.



Caratteri biometrici

Sono di norma quantificati numericamente attraverso misure ben definite di alcune regioni corporee, che sono di norma riferite ad animali adulti e possono essere differenziate per sesso (pecore e arieti). Le principali misure biometriche considerate sono: l'altezza al garrese, la circonferenza toracica, la profondità toracica (a volte indicata anche come altezza toracica), la lunghezza del tronco e il peso vivo medio. Altre misure possono inoltre essere inserite se considerate importanti per la descrizione e riconoscimento dei soggetti, come ad esempio: la lunghezza e larghezza della groppa, la circonferenza degli stinchi anteriori, la lunghezza e larghezza delle orecchie, e così via.

Caratteri riproduttivi e produttivi

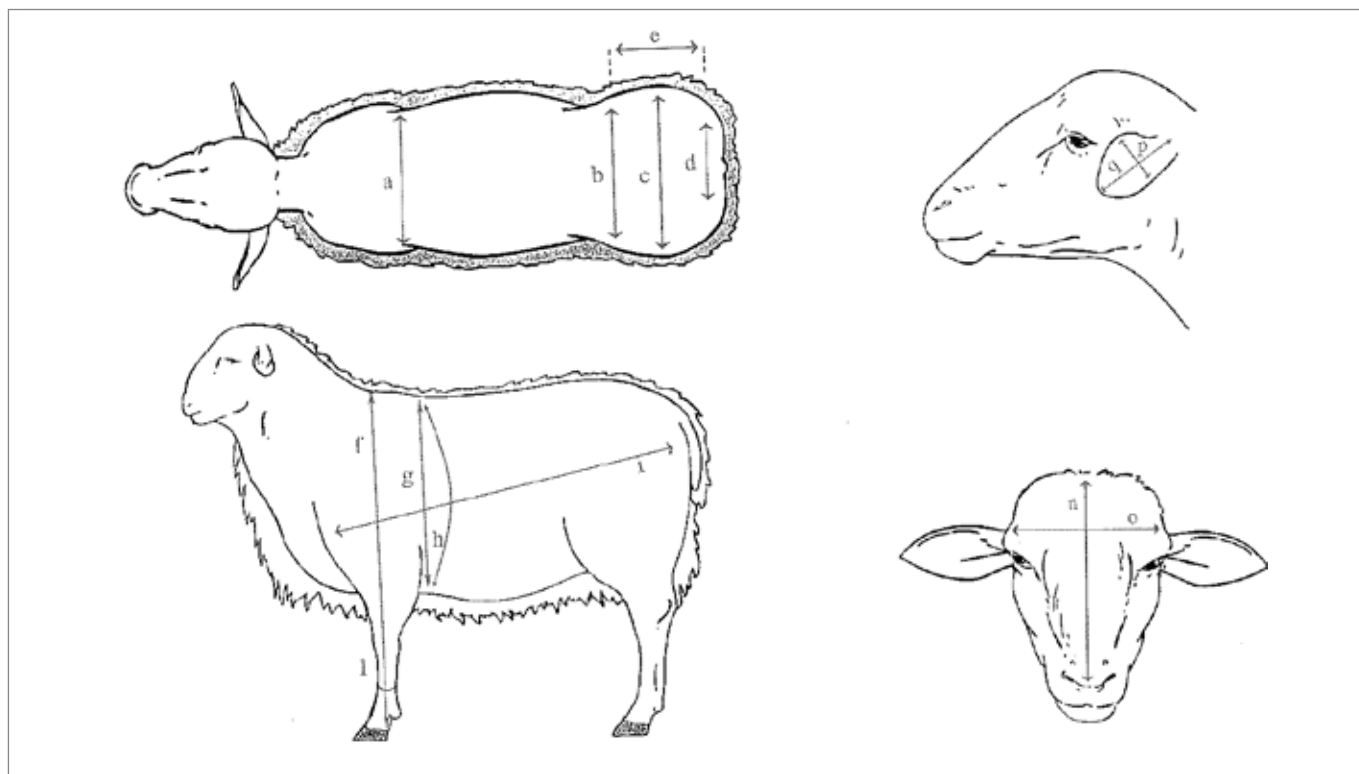
Descrivono le caratteristiche riproduttive (prolificità media, interparto, stagionalità dei calori, peso

alla nascita degli agnelli, ecc.) o produttive, come la produzione media di lana, di latte o il peso dell'agnello a una età definita.

Indirizzi di gestione della riproduzione

In questo paragrafo vengono indicate le priorità di massima da seguire nella gestione della riproduzione e le produzioni principali della razza (carne, latte o entrambe). L'obiettivo generale rimane quello di mantenere le caratteristiche specifiche della popolazione originaria, evitando la perdita di variabilità (fenotipica e genetica) causata dalla riduzione dei capi allevati e dall'eccessiva consanguineità, un rischio sempre presente nelle piccole popolazioni.

Nelle pagine successive viene riportato lo standard anagrafico specifico di ogni razza ovina veneta, definito e approvato all'avvio del Registro Anagrafico.



Principali caratteri biometrici (figure tratte dal libro "Le razze ovine autoctone del Veneto", edito da Veneto Agricoltura, 2002)

Tipo di misura:

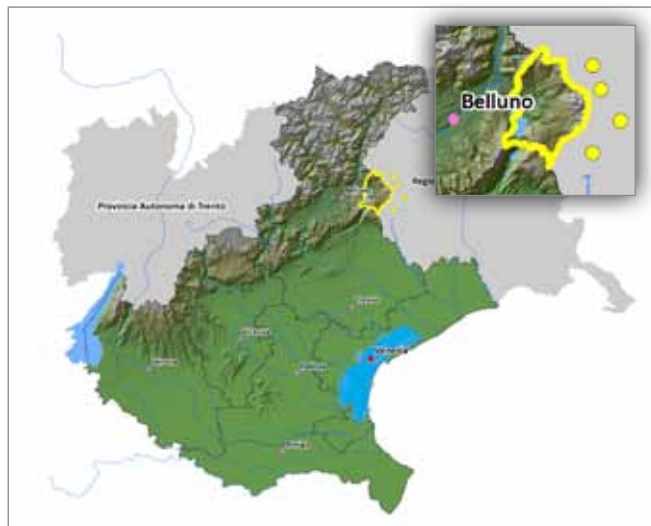
- | | |
|-----------------------------------|---|
| a – larghezza del torace | h – circonferenza del torace |
| b – larghezza alle creste iliache | i – lunghezza del tronco |
| c – larghezza ai trocanteri | l – circonferenza stinco arto anteriore |
| d – larghezza agli ischi | n – lunghezza della testa |
| e – lunghezza della groppa | o – larghezza della fronte |
| f – altezza al garrese | p – larghezza dell'orecchio |
| g – profondità toracica | q – lunghezza dell'orecchio |



La razza Alpagota

La pecora di razza Alpagota, conosciuta anche come Pagota, è una popolazione autoctona con zona di origine nell'area dell'altopiano Alpagò-Cansiglio, nella parte sud-est della provincia di Belluno. Classificata tra le pecore alpine, anche se in passato ha probabilmente subito diversi tentativi di incrocio con altre razze dell'area (ad es. con la Lamon), ha mantenuto le sue caratteristiche di rusticità e frugalità, collegate alla sua mole ridotta. Recenti indagini (vedi successivo paragrafo) sulla somiglianza e "vicinanza" genetica tra le razze ovine venete condotte dal Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di Padova, in collaborazione con il Settore Ricerca Agraria di Veneto Agricoltura, hanno evidenziato come questa razza abbia mantenuto la sua specificità e risulti sufficientemente distinta dalle altre razze venete. La pecora Alpagota viene allevata principalmente nell'area di origine (Alpago) e in comuni limitrofi delle provincie di Belluno e Treviso; altri greggi sono presenti nella limitrofa provincia di Pordenone. Spesso si tratta di aziende part-time, con sistema di allevamento principalmente brado nel periodo aprile-novembre, e semibrado confinato in prossimità dei ricoveri nel periodo invernale; molti di questi allevamenti hanno una popolazione medio-piccola di 20-40 capi, mentre solo alcuni superano i 200 capi.

Attualmente, in base ai dati di APA Belluno e Veneto Agricoltura (2010), la popolazione di razza Alpagota risulta essere di circa 2.400 capi, suddivisi in una cinquantina di allevamenti (47 solo nella provincia di Belluno).



Area di origine della razza e di principale allevamento



Caratteri esteriori tipici della popolazione

Taglia media.

Testa acorne, in entrambi i sessi, proporzionata, con profilo lievemente montonino nelle femmine e montonino nei maschi. Le macchie che coprono la testa sono più o meno estese e numerose, di colore bruno nelle sue varie tonalità, e raramente nero. Le orecchie, pure maculate, sono generalmente di media lunghezza, frequentemente possono essere corte, e in minore misura lunghe o assenti (mancanza del padiglione auricolare).

Collo di media lunghezza, bene attaccato al tronco e alla testa.

Tronco di media lunghezza e proporzionato all'altezza dell'animale. Torace poco profondo. Profilo dorso-lombare dritto o leggermente insellato. Groppa mediamente sviluppata in lunghezza e larghezza e leggermente spiovente. Addome voluminoso. Coda lunga sino a sotto il garretto.

Arti solidi e leggeri, proporzionati e mediamente lunghi, coperti, come la testa, da macchie più o meno estese e numerose, di colore bruno o di sue tonalità, generalmente più scure; più raramente le macchie possono essere anche di colore nero.

Vello bianco, aperto o semiaperto, copre tutto il tronco e la parte prossimale degli arti, si estende al collo, alla base del cranio, alla coda, e a volte sulla fronte. La testa e la parte rimanente degli arti sono generalmente privi di lana.

Pelle e pigmentazione rosea ed elastica. Lingua e palato di colore rosa o grigio, con o senza macchiettatura. Difetti di tipo zoognostico che ne precludono l'iscrizione al Registro: assenza completa di maculatura.

Caratteri biometrici e riproduttivi

Carattere	unità di misura	valore medio	DS ($\pm$)
altezza al garrese	cm	67	3,1
profondità toracica	cm	29	1,7
larghezza media della groppa	cm	21	1,4
lunghezza del tronco	cm	70	3,2
circonferenza toracica	cm	83	5,0
peso	kg	50	7,8
prolificità	%	146 (mediamente 1,46 agnelli/parto)	

Caratteri produttivi

La principale attitudine produttiva è la carne (agnello). Il peso degli agnelli alla nascita (maschi e femmine) varia in base a diversi fattori (stato nutrizionale della pecora, n. di parto, gemellarità), in media è di 4,5 kg; a 30 giorni è di 13 kg e a 60 giorni mediamente di 19 kg. L'agnello viene macellato a diverse età (50-90 giorni) con peso vivo medio di 17-25 kg.

In passato, dopo lo svezzamento dell'agnello o la macellazione di questo, le pecore potevano essere munte per 70-90 giorni, con una produzione media di latte di 0,8-1,2 litri/capo/giorno.

Attualmente si preferisce la produzione di carne con l'agnello, anche con allattamenti prolungati, e la mungitura è molto rara.

La produzione di lana è di circa 2,5-3 kg/capo/anno in due tose.

Indirizzi di gestione della riproduzione

L'indirizzo di gestione della riproduzione deve essere volto alla conservazione degli aspetti che caratterizzano questa razza come la rusticità e la prolificità.

La produzione principale è la carne di agnello.

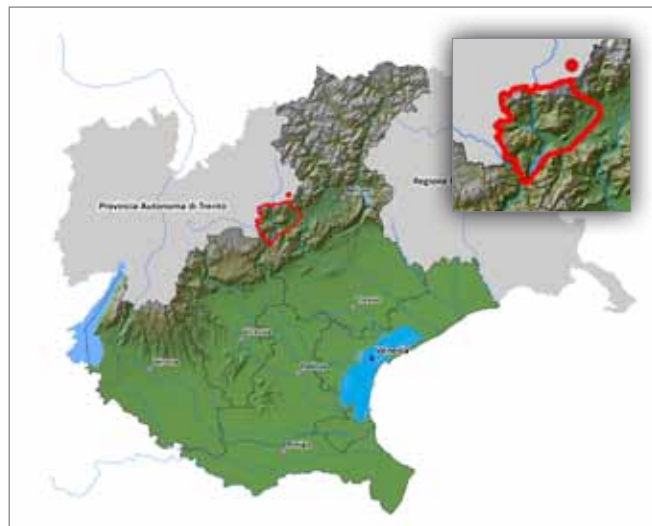


La razza Lamon

La pecora di razza Lamon, conosciuta anche come Lamone o Feltrina, è una popolazione autoctona originaria dell'omonima area nella provincia di Belluno. In passato era diffusa in diverse province del Veneto, Trentino e Friuli; attualmente la popolazione è presente principalmente nel comune di Lamon e in alcuni altri comuni della Val Belluna. Nel secolo scorso diversi allevatori utilizzarono arieti di razza Bergamasca per aumentare la taglia della Lamon e ottenere un miglioramento nella produzione di carne. In passato è stata molto utilizzata nei greggi di pastorizia transumante che si spostavano, in base alle stagioni, dagli alpeggi estivi ai pascoli su terreni di pianura seguendo gli argini dei fiumi che attraversano la pianura veneta. Questi animali, infatti, sono molto resistenti, ottimi camminatori e pascolatori, si adattavano perciò bene alla transumanza e non richiedevano particolari ricoveri. Considerata una razza a triplice attitudine, attualmente viene allevata solo per la produzione della carne. Con l'abbandono per cause socio-economiche di questa forma di allevamento nelle aree interessate, la razza ha visto una rapida riduzione della sua popolazione; dai circa 10mila capi del 1960, nel 1990 ne rimanevano circa 600, e all'inizio degli anni 2000 meno di 300 capi.

Attualmente viene allevata in pochi allevamenti di piccole dimensioni (greggi di 10-15 capi), con stabulazione invernale in ricoveri e pascolo primaverile-estivo sui terreni limitrofi all'allevamento o in malghe a pascolo comune (come nell'area del molte Coppolo nel comune di Lamon). Da alcuni anni a seguito del livello di criticità raggiunto dalla popolazione, sono stati avviati due allevamenti per la conservazione della razza presso strutture pubbliche: Centro di conservazione delle razze ovine di Veneto Agricoltura (azienda Villiago, Sedico, BL) e Istituto Professionale e Tecnico di Stato per l'Agricoltura e l'Ambiente "Antonio Della Lucia", Feltre (BL). Questi due allevamenti detengono attualmente circa 1/3 della popolazione e, attraverso contatti con gli allevatori dell'area, cercano di sostenere il recupero della razza, l'aumento dei capi allevati e la sostituzione periodica degli arieti.

Secondo i dati APA Belluno e Veneto Agricoltura (2010), risultano iscritti al Registro Anagrafico della razza Lamon circa 180 riproduttori in 10 allevamenti, 8 dei quali in provincia di Belluno.



Area di origine della razza e di principale allevamento



Caratteri esteriori tipici della popolazione

Taglia grande.

Testa acorne in entrambi i sessi, proporzionata, con il profilo leggermente montonino nelle femmine e montanino nei maschi. Le macchie che coprono la testa sono più o meno numerose, di colore bruno o marrone scuro. Le orecchie, pure maculate, sono generalmente lunghe, larghe e pendenti, frequentemente possono essere anche di media lunghezza e in minor misura anche corte o assenti.

Collo di media lunghezza, bene attaccato al tronco e alla testa.

Tronco lungo e proporzionato all'altezza dell'animale. Torace di media profondità e ampiezza. Profilo dorso-lombare dritto. Groppa ben sviluppata in lunghezza e in larghezza, leggermente spiovente. Addome voluminoso. Coda lunga fino a sotto il garretto.

Arti robusti, proporzionati e lunghi.

Vello bianco, aperto o semiaperto, con filamenti di lana lunghi, piuttosto grossolani e frammisti a giara, copre tutto il tronco fino alla coda, è esteso al collo, alla base del cranio, e a volte anche alla fronte. Gli arti possono essere in parte coperti da filamenti di lana corta. La testa e la parte rimanente degli arti sono generalmente privi di lana.

Pelle e pigmentazione rosea ed elastica. Lingua e palato di colore rosa o grigio, con o senza macchiettatura. Testa e arti sono coperti di macchie più o meno estese e numerose di colore bruno o più scure, più raramente nere.

Difetti di tipo zoognostico che ne precludono l'iscrizione al Registro: assenza completa di maculatura.

Caratteri biometrici e riproduttivi

Carattere	unità di misura	valore medio	DS ($\pm$)
altezza al garrese	cm	74	4,9
profondità toracica	cm	31	2,8
larghezza media della groppa	cm	22	2,6
lunghezza del tronco	cm	76	7,0
circonferenza toracica	cm	93	8,5
peso	kg	66	15,1
prolificità	%	150 (mediamente 1,5 agnelli/parto)	



Caratteri produttivi

L'attitudine principale della razza Lamon è la produzione di carne; in passato veniva prodotto sia l'agnello leggero (18-35 kg di peso vivo), sia un agnellone pesante castrato (60-70 kg). Il peso alla nascita varia in funzione della condizione della pecora, n. di parto e gemellarità; indicativamente gli agnelli pesano circa 4,5 kg alla nascita e 12-14 kg dopo 30 giorni. Tutto il latte della pecora viene utilizzato per gli agnelli.

La produzione di lana è di 4,5-5 kg per capo/anno in 2 tose.

Indirizzi di gestione della riproduzione

L'indirizzo per la gestione della riproduzione deve essere volto alla conservazione della rusticità della razza, mantenendo la carne come produzione principale.

In considerazione della ridotta popolazione attualmente allevata, e quindi dell'elevato rischio di scomparsa della razza, l'obiettivo primario rimane quello di incoraggiare l'allevamento sia attraverso l'aumento dei capi dei greggi esistenti, sia attraverso lo sviluppo di nuovi allevamenti in aziende in grado di assicurare una corretta gestione della riproduzione in purezza, con sostituzione continua degli arieti (per controllare il grado di consanguineità) e mantenimento in allevamento di tutte le agnelle conformi allo standard di razza.



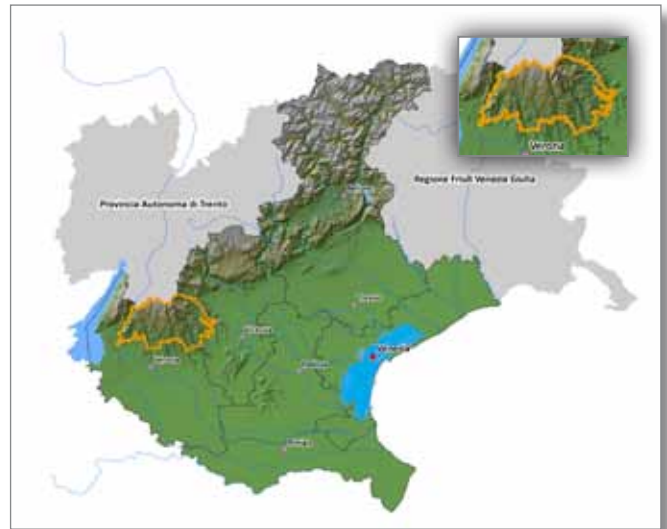
La razza Brogna

La pecora di razza Brogna è conosciuta anche con altri nomi, come Brognola, Progna, Ross a Vis e Testa Rossa.

La sua origine è ancora incerta, anche se concordemente considerata autoctona della Lessinia, l'area montana in provincia di Verona raccolta tra i Monti Lessini e le cinque valli che scendono verso la pianura. La maggior parte degli allevamenti è tuttora presente in quest'area, soprattutto in Val d'Illasi, e in modo più limitato nell'area confinante della provincia di Vicenza (comuni di Chiampo, Crespadoro, Altissimo, ecc.). La Brogna viene allevata in piccoli greggi, salvo qualche eccezione di aziende con oltre 200 capi; la forma di allevamento è generalmente di tipo stanziale, utilizzando i pascoli limitrofi ai ricoveri o aree di malga nel periodo estivo. Tradizionalmente si poteva considerare un razza a triplice attitudine (carne, latte e lana), ma ora la produzione principale è rappresentata dalla carne di agnello e secondariamente dal latte (utilizzato per la produzione di un formaggio misto ovino-vacchino) limitatamente ad alcune aziende.

Nel 1990 la popolazione era di circa 1.400 capi, mentre nel 2000 circa 1.200 distribuiti in una cinquantina di allevamenti.

Attualmente in base ai dati di APA Verona e Veneto Agricoltura (2010), la popolazione di razza Brogna iscritta al Registro Anagrafico è di circa 1.700 animali suddivisi in 30 allevamenti.



Area di origine della razza e di principale allevamento



Caratteri esteriori tipici della popolazione

Taglia media.

Testa acorne in entrambe i sessi, poco frequente la presenza di corna rudimentali nei maschi. Proporzionata con profilo lievemente montonino nelle femmine e montanino nei maschi, con macchie più o meno estese di colore tendente al rosso. Le orecchie, pure maculate, sono di media lunghezza, portate di norma obliquamente verso il basso e talvolta orizzontalmente.

Collo di media lunghezza, bene attaccato al tronco e alla testa.

Tronco di media lunghezza, proporzionato all'altezza dell'animale. Torace poco profondo. Profilo dorso lombare generalmente rettilineo. Groppa leggermente spiovente, superiore in lunghezza che in larghezza. Coda lunga fino al garretto.

Arti leggeri, proporzionati e di media lunghezza.

Vello bianco, aperto o semiaperto, copre tutto il tronco, esteso al collo, alla base del cranio, alla coda, alla parte esterna prossimale della gamba (più limitatamente o quasi assente nella regione sterno ventrale). La testa e gli arti sono privi di lana.

Pelle e pigmentazione rosea, elastica e sottile. Lingua e palato di colore rosa o grigio, con o senza macchiatura. Testa e arti, più raramente collo e tronco, sono coperti da macchie più o meno estese di colore rosso (anche con tonalità tendenti al castano chiaro o al bruno).

Difetti di tipo zoognostico che precludono l'iscrizione al Registro: profili nasali marcatamente montanini, grossolanità dello scheletro, assenza completa di maculatura.

Caratteri biometrici e riproduttivi

Carattere	unità di misura	valore medio	DS ($\pm$)
altezza al garrese	cm	68	3,9
profondità toracica	cm	29	3,2
larghezza media della groppa	cm	19	2,1
lunghezza del tronco	cm	69	6,4
circonferenza toracica	cm	82	6,1
peso	kg	48	10,8
prolificità	%	153 (mediamente 1,5 agnelli/parto)	



Caratteri produttivi

Principalmente allevata per la produzione della carne con l'agnello leggero. Alla nascita gli agnelli presentano un peso medio (molto influenzato dalla gemellarità) di circa 4-4,5 kg, a 30 giorni raggiungono un peso di circa 12 kg e a due mesi 17-18 kg.

Dopo lo svezzamento la pecora può produrre latte (circa 1-1,2 litri/capo/giorno) per 2-3 mesi.

La produzione di lana è di circa 2,5-3 kg/capo/anno in 2 tose.

Indirizzi di gestione della riproduzione

L'indirizzo per la gestione della riproduzione deve essere volto alla conservazione della rusticità e della prolificità della razza, elementi che la caratterizzano. La produzione principale è quella della carne e secondariamente del latte.

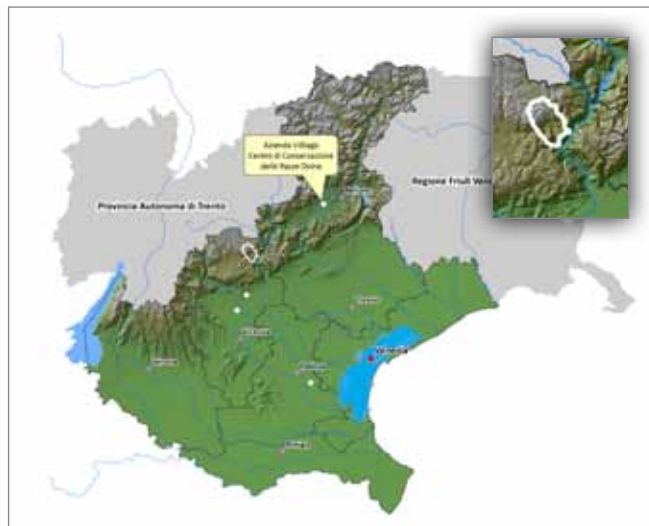


La razza Vicentina o di Foza

L'origine della pecora Vicentina o di Foza o dei Sette Comuni (quest'ultimo nome riferito all'altopiano di Asiago) non è certa. Probabilmente in epoche passate nell'area attualmente considerata come la culla di origine della razza (altopiano di Asiago e in particolare il comune di Foza), vi furono contatti con greggi di pecore di razza Lamon, provenienti dall'omonimo comune bellunese o da Castel Tesino (Tn), che nel periodo estivo utilizzavano i pascoli dell'altipiano (in particolare verso Marcesina-Monte Ortigara).

Nel 1942 si stimava che gli ovini di razza Vicentina o di Foza e Lamon potessero arrivare a circa 40.000 capi, mentre nel 1953 la sola razza Vicentina o di Foza ne contava ancora 9.200. Successivamente si ebbe un rapido abbandono della razza e da un'indagine del 1991 risultò che ne rimanevano solo una sessantina di capi in due allevamenti nella zona di origine.

Negli ultimi anni, grazie al lavoro di alcuni enti pubblici (Veneto Agricoltura, Provincia di Vicenza e Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Padova) e qualche allevatore interessato, la situazione è leggermente migliorata, pur permanendo un alto livello di criticità rappresentato dall'esigua popolazione. Nel 2010 (dati di Veneto Agricoltura e APA di Vicenza), la popolazione contava circa 120 capi in 5 allevamenti (di cui 3 aziende di enti pubblici).



Area di origine e attuali allevamenti (punti indicati) di razza Vicentina o di Foza



Caratteri esteriori tipici della popolazione

Taglia medio-pesante.

Testa pesante, con profilo montonino; acorne, sia nei maschi che nelle femmine; orecchie lunghe, larghe e pendenti; presenza di macchie irregolari, più o meno estese sulla testa e sulle orecchie, di colore scuro o nero.

Collo mediamente lungo, forte, ben attaccato al tronco.

Tronco cilindrico, ben sviluppato, con torace profondo.

Arti lunghi, robusti e asciutti, coperti di peli bianchi o castani con o senza macchie, privi di lana dalle ginocchia e dal garretto in giù.

Vello di colore prevalentemente bianco, di qualità ordinaria da materasso, ricopre tutto il corpo, ad eccezione della faccia, delle orecchie e degli arti al di sotto del garretto.

Pelle di colore rosa vivo con frequenti pigmentazioni nere, bluastre in corrispondenza delle macchie del vello. Anche l'interno della bocca risulta spesso pigmentato.

Difetti di tipo zoognostico che ne precludono l'iscrizione al Registro: prognatismo, vello completamente bianco.

Caratteri biometrici e riproduttivi

Carattere	unità di misura	valore medio*
altezza al garrese	cm	83
profondità toracica	cm	35
lunghezza del tronco	cm	81
circonferenza toracica	cm	100
peso	kg	83
prolificità	%	130 (mediamente 1,3 agnelli/parto)

*riferito a pecore adulte

Caratteri produttivi

La Vicentina o di Foza è una razza normalmente docile con buon istinto materno; non è stagionale e presenta una prolificità nella media per le razze da carne con 1,3 agnelli/parto. Alla nascita l'agnello pesa indicativamente 3-4 kg a seconda se si tratta di gravidanza gemellare o singola.

La produzione principale della razza è quella della carne, sia con l'agnello leggero di 18-25 kg sia con l'agnellone di 45-50 kg di peso vivo a 3-4 mesi di età.

La produzione di lana è di circa 3-4 kg/capo/anno in 2 tose.



Indirizzi di gestione della riproduzione

L'indirizzo per la gestione della riproduzione deve essere volto all'aumento della popolazione allevata, conservando la rusticità della razza, mantenendo o sviluppando la produzione della carne.

In considerazione della ridotta popolazione attualmente allevata, e quindi dell'elevato rischio di scomparsa della razza, l'obiettivo primario rimane quello di incoraggiarne l'allevamento con lo sviluppo di nuovi greggi in aziende in grado di assicurare una corretta gestione della riproduzione in purezza, con sostituzione continua degli arieti (per controllare il grado di consanguineità) e mantenimento in vita di tutte le agnelle conformi allo standard di razza.



L'importanza delle risorse genetiche animali autoctone

La biodiversità comprende tutte le forme di vita presenti in un dato ambiente e in un certo periodo di tempo. Per popolazione naturale si intende l'insieme dei soggetti di una specie che hanno caratteri fisiologici, etologici, morfologici e riproduttivi in comune. Se avviene una selezione naturale (dovuta ad esempio a isolamento geografico), ecco che si possono riconoscere dei gruppi di animali spesso simili tra loro per caratteri esterni. Se si parla di selezione antropica, invece, è l'uomo che opera degli accoppiamenti mirati affinché il gruppo di animali possieda un aspetto uniforme, ereditabile e distinguibile da un altro gruppo di animali appartenenti alla stessa specie.

Con il termine fenotipo si intende l'insieme di tutte le caratteristiche osservabili in un animale, sia quelle qualitative, tra cui, ad esempio, il colore del mantello, sia quelle quantitative, come l'altezza al garrese o il peso vivo. La sua espressione deriva dal patrimonio genetico dei soggetti, ma è influenzata nel suo sviluppo finale dall'ambiente in cui l'animale vive. Le variazioni fenotipiche (causate da variazioni genetiche ereditarie di base) sono un prerequisito fondamentale per l'evoluzione e per la selezione naturale. Infatti quest'ultima agisce indirettamente sulla struttura genetica di una popolazione tramite il contributo fenotipico. Senza variazione fenotipica non ci sarebbe nessuna evoluzione per selezione naturale. Nell'allevamento, invece, la pressione antropica è spesso la causa principale di variazione fenotipica, andando ad agire direttamente mediante il processo di selezione, scegliendo i soggetti riproduttori (quindi il patrimonio genetico di base) e non facendo agire il caso o la selezione naturale. Soggetti che presentano un fenotipo simile non è detto che possiedano un patrimonio genetico simile, ma nella razze a limitata diffusione, dove i soggetti sono pochi, il riconoscimento morfologico rimane ancora uno dei sistemi adottati per la scelta dei riproduttori. In tale ottica, è importante cercare di selezionare sempre gli individui con requisiti morfometrici che siano delimitati da uno standard di razza condiviso e ben definito (come quello per l'ammissione al Registro Anagrafico o al Libro Genealogico).

Mentre la parentela è un rapporto tra due soggetti, la consanguineità (detta anche inbreeding) è una misura propria di un singolo individuo e indica la frazione di loci all'interno del genoma in cui sono presenti alleli identici per origine.

La consanguineità, ad esempio quando si spinge un processo di selezione genetica, porta a un aumento della frequenza di individui omozigoti nella

popolazione e si esprime attraverso il coefficiente di inbreeding, che corrisponde alla metà del rapporto di parentela tra i genitori. Se si ottiene però una consanguineità troppo elevata, si rischia di non avere più effetti nella selezione, in quanto si può avere una depressione da inbreeding, ossia una diminuzione delle performance produttive o riproduttive medie dei soggetti consanguinei, dovuta all'omozigosi di molti geni.

La consanguineità facilita anche la possibilità che geni recessivi (spesso indesiderati e rari) si manifestino, a livello fenotipico, attraverso la comparsa di patologie ereditarie in grado di procurare un danno sanitario, zootecnico ed economico. Risulta pertanto necessario monitorare i piani di accoppiamento, attraverso la scelta dei riproduttori, tenendo conto dei livelli di parentela. Questo vale soprattutto per le razze a limitata diffusione, dove il numero di individui è ridotto e la probabilità di accoppiare soggetti parenti diventa più frequente.

Come e perché le razze a limitata diffusione sono a rischio di scomparsa? In una popolazione o razza animale, non è importante solo il numero assoluto di individui riproduttori che la compone ma soprattutto il rapporto tra maschi e femmine. La FAO, Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura, attraverso il proprio servizio di tutela della biodiversità zootecnica, "Domestic Animal Diversity Information System" (DAD-IS, sito web all'indirizzo <http://dad.fao.org/>), cerca di sensibilizzare, coordinare e assistere governi, agenzie internazionali, ONG, gruppi di ricerca di tutto il mondo, allo scopo di ottimizzare il management delle risorse genetiche animali. In pratica, si tratta di un sistema informativo globale sulle razze, creato nel 1992, con lo scopo di fornire a chi si occupa di biodiversità un ampio database contenente le informazioni più importanti sulle razze esistenti, su quelle a rischio di scomparsa, sui metodi di conservazione, e così via. Ciò risulta necessario in quanto proprio dallo studio della biodiversità zootecnica è stato possibile creare dei sistemi di monitoraggio, utili a non perdere memoria del patrimonio genetico, culturale, storico ed economico che ci circonda. Come esempio, basti pensare che la coevoluzione tra uomo e ambiente, iniziata decine di migliaia di anni fa, ha determinato che solo 40 specie animali su 50.000 conosciute siano state addomesticate, e di queste solo 14 contribuiscono per più del 90% alla produzione di alimenti di origine animale.

I dati sullo stato di rischio di scomparsa delle razze, forniti dalla FAO (2007), indicano una continua minaccia per la biodiversità zootecnica: nel periodo 2000/2006 l'estinzione media è stata di circa una razza-popolazione al mese e, ad oggi, il 20% delle razze zootecniche risulta a rischio di estinzione.



Tabella 1 - Classi di rischio di estinzione (FAO, 2007)

Classe di rischio	Femmine	Maschi	Popolazione
ESTINTA	0	0	Assenza di materiale genetico crioconservato
CRITICA	≤ 100	≤ 5	≤ 120 capi totali, in decremento e $\leq 80\%$ femmine pure
CRITICA SALVAGUARDIA	Numero di animali come nella categoria precedente, ma sono attivi programmi di conservazione		
PERICOLO DI ESTINZIONE	$100 \leq n \leq 1.000$	$5 \leq n \leq 20$	80-100 capi in aumento se almeno l'80% di femmine pure; oppure 1.000-1.200 capi in diminuzione con meno dell'80% di femmine pure
PERICOLO SALVAGUARDIA	Numero di animali come nella categoria precedente, ma sono attivi programmi di conservazione		
NON A RISCHIO	≥ 1.000	≥ 20	A limitata diffusione: diffusa nel territorio nazionale A larga diffusione: presente in più Nazioni
SCONOSCIUTA	La numerosità non è nota		

Nella tabella 1 vengono riportate le classi di rischio di estinzione definite proprio dalla FAO (2007), sulla base del numero di femmine, maschi o della consistenza dell'intera popolazione.

In base ai dati sopra espressi, si può comprendere come le razze ovine venete si trovino, ad oggi, nella categoria "PERICOLO-SALVAGUARDIA", solo perché sono attivi dei programmi di conservazione. Tuttavia, se tali programmi fossero sostenuti solo da Enti pubblici o istituzionali, senza l'appoggio diretto di allevatori, tale misura sarebbe sicuramente poco efficace per la sopravvivenza della popolazione e del suo patrimonio genetico.

L'indagine sul patrimonio genetico

Nell'ambito della conservazione della biodiversità animale, Veneto Agricoltura, in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di Padova, ha svolto un'indagine genetica delle razze ovine venete.

Nel corso della ricerca si è provveduto ad aumentare la conoscenza delle caratteristiche genetiche delle popolazioni ovine oggetto del programma di conservazione, (livello di consanguineità, somiglianza e/o distanza genetica tra le razze) attraverso l'utilizzo di marcatori genetici (17 microsatelliti) secondo le indicazioni suggerite della FAO_Domestic Animal Diversity-Information System (FAO, 2007), su campioni di sangue prelevati dai soggetti iscritti al Registro Anagrafico. I soggetti analizzati sono stati complessivamente 726 (tabella 2), di cui 31 di razza Appenninica derivanti da 3 allevamenti distinti tra loro (2 della provincia di Arezzo e 1 della provincia di Siena) utili come gruppo di riferimento, e 695 appartenenti alle 4 razze ovine venete (250 Alpagota, 186 Brogna, 118 Vicentina e 141 Lamon). I campioni provenivano complessivamente per circa il 30% dall'allevamento Villiogo e per il restante 70% da altre aziende dislocate nel

territorio regionale del Veneto, ed erano composti per circa il 39% da soggetti maschi e per circa il 61% da soggetti femmine. In generale, il totale dei soggetti stimati per le quattro razze venete a limitata diffusione ammontava, nel 2009-2010, a circa 2.400 soggetti per Alpagota, 1.700 per Brogna, 180 per Lamon e solo 120 per Vicentina.

Sul totale delle 5 razze analizzate sono stati rilevati complessivamente 342 alleli, con una media di 20,12 alleli per locus e con un contenuto di informazione polimorfica (PIC) media pari a 0,80. Nel complesso, i marcatori utilizzati hanno evidenziato un buon grado di polimorfismo, confrontabile con quello riscontrato in altri studi di caratterizzazione e differenziazione genetica delle razze ovine.

In particolare, è stato possibile rilevare come i microsatelliti più polimorfici siano stati MAF214 (19 alleli) per Alpagota, OarCP49 (20 alleli) per Brogna, INRA063, MAF214 e ILSTS087 per Vicentina e URB058 per Lamon (tutti e quattro con 16 alleli).

L'analisi genetica, assistita dai diciassette marcatori microsatellite, delle quattro razze ovine autoctone venete ha avuto come primo obiettivo la valutazione del grado di variabilità esistente all'interno di ogni nucleo di conservazione. Sebbene la razza Alpagota abbia rilevato il numero maggiore di alleli (15,353), ha dimostrato di possedere il PIC minore tra le 4 razze venete, con un valore pari a 0,640, nonché il valore di FIS (0,011) e quelli dell'eterozigosità attesa e osservata, con valori di 0,768 e 0,675 rispettivamente. In generale, il valore più basso di eterozigosità attesa è stato riscontrato per la razza Alpagota, quello più elevato è stato determinato per la Vicentina. Il numero di eterozigoti osservato è massimo per la Lamon, seguita da Vicentina, e minimo per la razza Alpagota. Per nessuna delle razze è stato rilevato un deficit complessivo e significativo di eterozigoti. Il valore di *coancestry*



Tabella 2 - Consistenza numerica del campione analizzato

Razza e Sesso		N. di Capi			Valori %	
		Altre aziende	Villiago	TOTALE	Altre aziende	Villiago
Alpagota	♀	147	29	176	83,52	16,48
	♂	39	35	74	52,70	47,30
	totale	186	64	250	74,40	25,60
Brogna	♀	94	30	124	75,81	24,19
	♂	34	28	62	54,84	45,16
	totale	128	58	186	68,82	31,18
Foza	♀	35	14	49	71,43	28,57
	♂	41	28	69	59,42	40,58
	totale	76	42	118	64,41	35,59
Lamon	♀	59	17	76	77,63	22,37
	♂	41	24	65	63,08	36,92
	totale	100	41	141	70,92	29,08
TOTALE		490	205	695	70,50	29,50

Legenda: ♂ = maschio / ♀ = femmina

molecolare media (fij) entro razza è risultato pari a 0,248 in Alpagota, 0,221 in Brogna, 0,26 in Lamon e 0,20 in Vicentina. I valori ottenuti risultano in linea con i risultati precedentemente ottenuti su razze presenti nell'arco alpino e comparabili a quelli riscontrati per razze ovine locali spagnole. I risultati mostrano, inoltre, come non vi sia un'alta parentela media tra gli animali analizzati entro razza, confermando la buona base genetica su cui è fondato il piano di conservazione. Complessivamente, la diversità genetica più alta è stata evidenziata per la razza Vicentina. La ricerca di alleli presenti unicamente in una delle razze studiate risulta interessante in quanto tale valore può essere espressione di diversità intrinseca e, se realmente associati alla razza, anche di unicità genetica. Per quanto riguarda le singole razze ovine venete, sono stati riscontrati in particolare: 7 alleli unici per Brogna, 4 alleli unici per Vicentina, 2 alleli unici per Lamon e 1 solo allele unico per Alpagota. La rimozione di una delle qualsiasi razze analizzate dal dataset secondo l'approccio di Caballero e Toro (ovvero di tutti i soggetti appartenenti a quella razza) comporta una variazione in positivo o in negativo nella diversità genetica complessiva della popolazione. Va detto che la variabilità genetica complessiva è composta dal bilancio della variazione di diversità genetica interna alla razza e della variabilità genetica dovuta alle differenze tra le razze. Nel caso specifico, complessivamente la diversità genetica varia da +1,080% per la rimozione degli animali di razza Alpagota a -1,196% per la rimozione degli animali

appartenenti alla razza Vicentina. In generale, è possibile affermare che le due razze che maggiormente devono essere seguite in termini di gestione, sono appunto la Vicentina e l'Alpagota.

Le razze ovine venete sono geneticamente diverse tra loro?

Il secondo obiettivo di questo studio è stato quello di determinare l'entità e il tipo di differenziazione genetica esistente fra le razze, al fine di poter mettere in evidenza i rapporti di diversità fra le stesse e di identificare eventuali razze divergenti dalle altre, ovvero potenziali serbatoi di diversità genetica. Il valore del coefficiente di differenziazione F_{ST} tra le razze (tabella 3), esprime la proporzione della variabilità genetica esistente "fra le razze" ed è calcolato per la popolazione campionaria complessiva. Dai valori similari ottenuti, si può dire che le razze in esame non appaiono dunque altamente differenziate fra loro, e ciò può essere spiegato anche in base alla loro comune origine europea. Per studiare la differenziazione fra razze è stata effettuata l'analisi fattoriale utilizzando l'informativa data dai valori rilevati nei diciassette loci microsatellite mediante il software Genetix. Per ogni individuo sono stati ricavati i tre fattori principali in grado di esaltare al meglio la separazione fra i diversi gruppi, e tali valori sono stati utilizzati come coordinate spaziali. Ciò ha permesso di ottenere una rappresentazione grafica di tutti gli individui. L'analisi fattoriale della corrispondenza è stata eseguita prima in un dataset contemplante anche la razza di riferimento (Ap-



penninica) per vagliare l'omogeneità delle distanze genetiche (figura 1) e successivamente è stata fatta considerando solo i dati relativi alle 4 razze venete (figura 2), per investigare le distanze genetiche intercorrenti tra le 4 razze. La distribuzione spaziale

in entrambi i grafici di riferimento mostra come gli animali facciano parte di gruppi (cluster) apparentemente omogenei ma generalmente ben differenziati nelle 5 razze (figura 1) o nelle 4 razze (figura 2) e separati nettamente dalla razza di riferimento.

Tabella 3 - Numero medio di alleli, contenuto medio informativo del polimorfismo (PIC), valori medi dell'eterozigosità attesa (H attesa) e osservata (H osservata), valori puntuali di FIS (misura media del deficit dell'eccesso di eterozigosi in una popolazione) e valori di parentela molecolare (fij) entro razza, per le razze ovine venete analizzate (p< 0,001 indicato con ***)

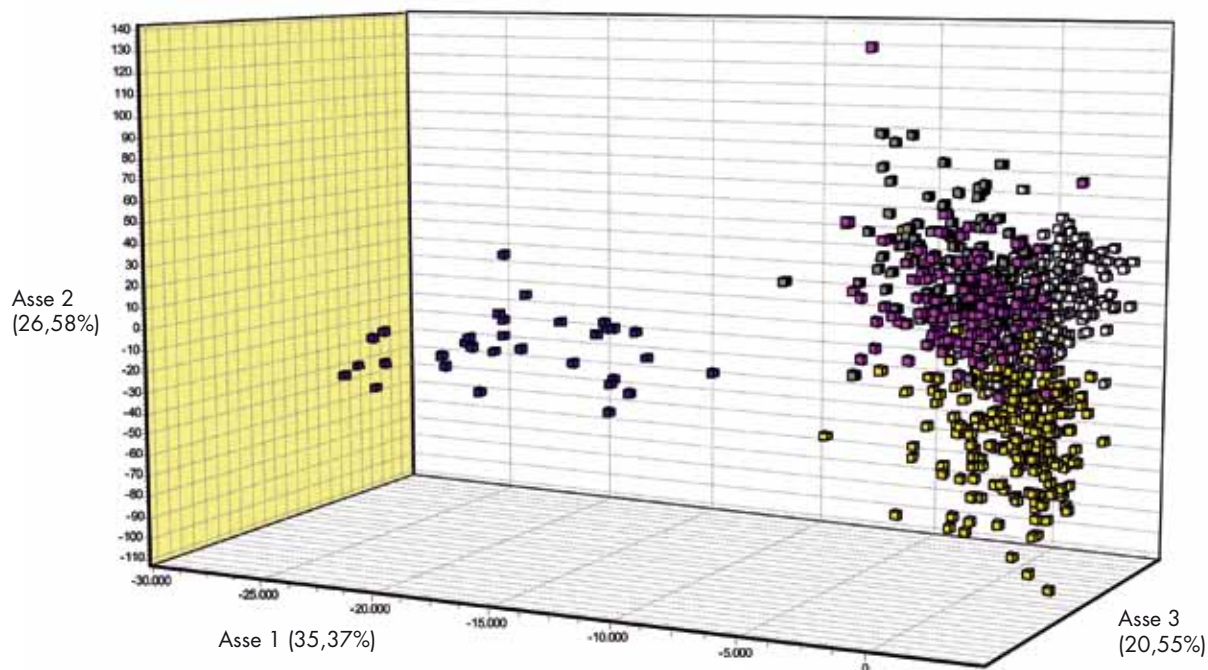
Parametri	Alpagota	Broгна	Vicentina	Lamon
N° capi	250	186	118	141
N° medio di alleli	15,353	13,588	12,118	12,235
PIC	0,640	0,654	0,678	0,667
H attesa	0,768	0,788	0,804	0,800
DS	0,111	0,078	0,091	0,075
H osservata	0,675	0,701	0,720	0,722
DS	0,161	0,095	0,150	0,112
FIS	0,011	0,025	0,079	0,020
P-value	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
fij	0,248	0,221	0,200	0,206

Tabella 4 - Consistenza dei capi divisi ed analizzati per razza: dati relativi all'azienda Villiagio in riferimento alle altre aziende (p< 0,001 indicato con ***)

Razza	Azienda	Capi	H exp. ± DS	H obs. ± DS	Guadagno/ Perdita	FIS	PIC
Lamon	Villiagio	41	0,784 ± 0,063	0,747 ± 0,131	-1377	0,036***	0,639
	Altre Aziende	100	0,791 ± 0,078	0,711 ± 0,116	-1481	0,100***	0,656
Vicentina o di Foza	Villiagio	42	0,760 ± 0,097	0,705 ± 0,141	-0,167	0,073***	0,614
	Azienda V	62	0,804 ± 0,083	0,735 ± 0,161	-3832	0,088***	0,679
	Azienda P	14	0,754 ± 0,093	0,711 ± 0,274	0,287	0,051***	0,604
Broagna	Villiagio	58	0,740 ± 0,094	0,712 ± 0,140	0,549	0,035***	0,571
	Altre Aziende	128	0,793 ± 0,076	0,696 ± 0,085	-5763	0,109***	0,666
Alpagota	Villiagio	64	0,712 ± 0,140	0,712 ± 0,140	0,051	0,025***	0,581
	Altre Aziende	186	0,712 ± 0,140	0,712 ± 0,140	-4922	0,139***	0,644

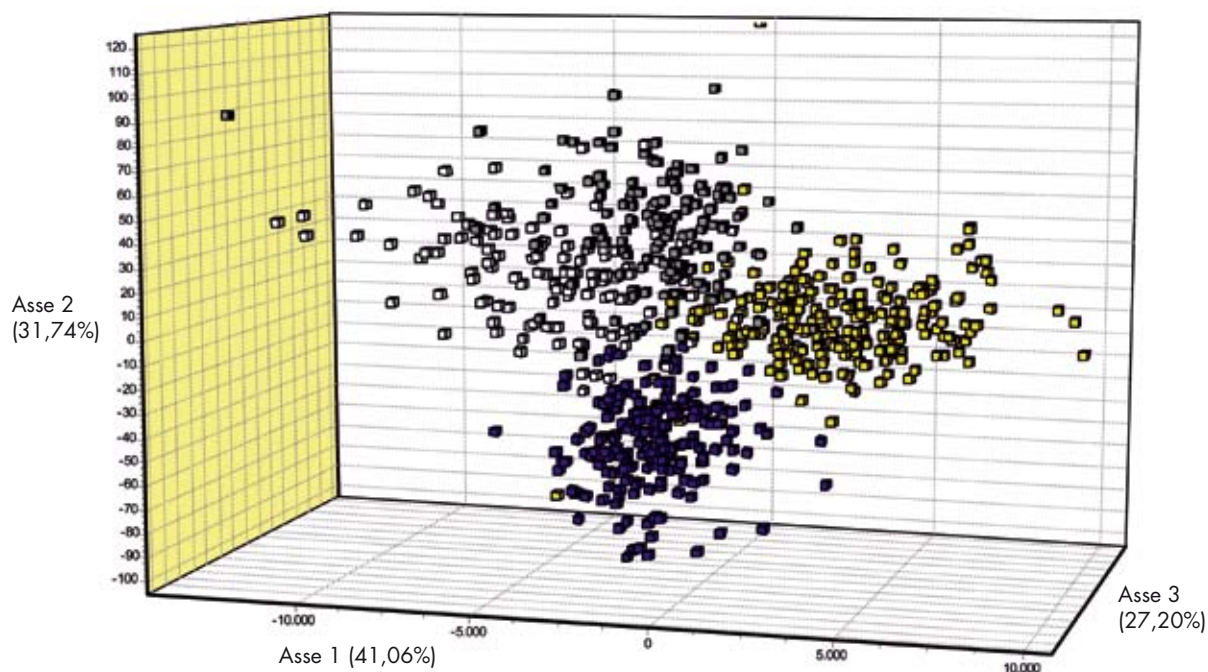


Figura 1 - Distribuzione degli individui secondo le componenti fattoriali principali (1, 2 e 3). Nel caso si riporta il valore dell'analisi tenendo conto dell'outgroup di riferimento (razza Appenninica)



Legenda colori: Alpagota= giallo; Brogna= bianco; Foza= grigio; Lamon= viola; Appenninica= blu.

Figura 2 - Distribuzione degli individui secondo le componenti fattoriali principali (1, 2 e 3). Nel caso sono state considerate nell'analisi solo le 4 razze ovine venete



Legenda colori: Alpagota= giallo; Brogna= blu; Foza= bianco; Lamon= grigio.

Conservazione delle razze autoctone e sensibilità alla "scrapie"

La *scrapie*, o encefalopatia spongiforme degli ovini, è una malattia neuro-degenerativa caratterizzata da un lungo periodo d'incubazione, da un decorso clinico lento ma letale per gli animali colpiti ed è causata da una proteina modificata deno-

minata PrPres o PrPsc (res=resistente alle proteasi; sc=scrapie). Questa proteina si accumula lentamente all'interno delle cellule nervose fino a provocarne la morte, con conseguente manifestazione dei sintomi clinici classici della malattia. Gli animali colpiti manifestano perdita di coordinazione nel movimento, tremolio crescente e continuo associato a prurito



che porta a grattarsi in maniera compulsiva, fino a prodursi abrasioni e ferite anche profonde in seguito a strofinamento contro qualunque superficie (da cui l'inglese "to scrape" che vuole dire "raschiare, grattare"). Sebbene per alcuni aspetti si avvicini all'encefalopatia spongiforme bovina (BSE), ad oggi, per questa malattia, non esistono prove scientifiche di trasmissibilità all'uomo.

Descritta inizialmente in Inghilterra nel 1700 (ma alcuni ricercatori sostengono che già in testi di scrittori medioevali se ne possono riscontrare tracce quando parlano di malattie degli ovini), attualmente è diffusa in tutto il mondo, ad esclusione di Australia e Nuova Zelanda.

Questa patologia colpisce animali adulti di età compresa tra i 2 anni e mezzo ed i 4 anni e mezzo, e solo raramente si riscontra in animali di età inferiore ai 18 mesi. Il periodo di incubazione va generalmente da 2 a 5 anni. Si trasmette sia ai maschi che alle femmine, principalmente per via orale, mediante l'assunzione di alimenti contaminati dal contatto accidentale con le placente di pecore infette; più raramente il contagio avviene per via neonatale. Non sono noti casi di trasmissione dovuti all'uso di montoni malati.

La possibilità di contrarre la malattia o di ammalarsi, definita come *grado di suscettibilità* di ogni soggetto, dipende dal suo patrimonio genetico. Nel caso degli ovini, l'analisi del DNA estratto dalle cellule del sangue ha permesso di identificare dei

genotipi in cui la presenza di determinati polimorfismi, cioè mutazioni nella sequenza nucleotidica del gene che si traducono in un cambio di aminoacido nella proteina, permette di classificare gli animali in 5 classi di riferimento, come indicato nella tabella 5, elaborata nell'ambito del Piano per il controllo della scrapie nel Regno Unito.

Nei piani di conservazione o di selezione di una razza ovina, conoscere il genotipo dei riproduttori relativamente alla classe di rischio (ovvero la suscettibilità a sviluppare la malattia se sottoposti a contagio), permette agli allevatori di poter pianificare gli accoppiamenti, al fine di migliorare dal punto di vista genetico il proprio gregge.

La selezione genetica per linea maschile è il principale sistema adottato; il risultato può essere accelerato genotipizzando (ovvero sottoponendo ad indagine preventiva) anche le pecore, agendo quindi anche per linea femminile. Un esempio degli effetti degli incroci ottenuto dai genotipi delle classi I, II e III, viene proposto nella tabella 6.

Dal punto di vista sanitario la scrapie è una malattia soggetta a denuncia ai sensi del Regolamento di polizia veterinaria (DPR 320/1954, Capo I - Malattie infettive e diffuse degli animali soggette a provvedimenti sanitari).

Il Ministero della Salute con proprio Decreto del 17 dicembre 2004 (pubblicato nella G.U. n.51 del 3/3/2005) aveva attivato un Piano nazionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi (EST) negli ovicapri, in ottemperanza alle disposizioni comunitarie, avviando un programma di sorveglianza attiva che prevede controlli a campione su tutti gli ovi-caprini di età superiore a 18 mesi macellati e/o morti in stalla.

Dal 2005, l'adesione al Piano è stata resa obbligatoria per tutti i greggi di elevato valore genetico, ovvero per quelle razze che dispongono di Libro Genealogico, mentre rimane tuttora facoltativa per quelle popolazioni-razze che dispongono di Registro Anagrafico, come le razze ovine venete. Tale differenza è legata al valore intrinseco delle razze coinvolte, soprattutto in termini di conservazione della biodiversità legata al ridotto numero di capi censiti nelle popolazioni a limitata diffusione. Infatti, considerato che il Piano nazionale pone il divieto di uso degli arieti con genotipo VRQ/VRQ (alta suscettibilità) e limita anche l'uso degli altri genotipi riferibili alla classe V (AHQ/VRQ, ARH/VRQ, ARQ/VRQ), se tale indicazione fosse applicata anche alle razze a ridotta numerosità (come quelle autoctone) si potrebbe causare una riduzione sensibile della variabilità genetica e della biodiversità della popolazione. Tuttavia, con il Decreto 227 del 23 marzo 2007 (Allegato 6), al fine di avere un quadro completo della situazione regionale, la Regione Veneto ha previsto

Tabella 5 - Classi di riferimento, in relazione alla suscettibilità nello sviluppare la malattia (definiti anche come *Gruppo di Rischio*), a contatto con gli agenti infettivi, dovuta al genotipo. (i genotipi rari AHQ, ARH, ARK, ecc. sono considerati equivalenti ad ARQ)

Genotipo (PrP)	Gruppo genotipico o Classe	Gruppo di rischio
ARR/ARR	1	Alta resistenza
ARR/AHQ	2	Resistenza
ARR/ARQ	2	Resistenza
ARR/ARH	2	Resistenza
AHQ/ARH	3	Poca resistenza
AHQ/AHQ	3	Poca resistenza
AHQ/ARQ	3	Poca resistenza
ARH/ARH	3	Poca resistenza
ARH/ARQ	3	Poca resistenza
ARQ/ARQ	3	Poca resistenza
ARR/VRQ	4	Suscettibilità
AHQ/VRQ	5	Alta suscettibilità
ARH/VRQ	5	Alta suscettibilità
ARQ/VRQ	5	Alta suscettibilità
VRQ/VRQ	5	Alta suscettibilità



Tabella 6 - Percentuale di appartenenza di un agnello ad una Classe di rischio in base alla Classe di rischio del padre e della madre

Riproduttori				Prole ottenuta (%)		
Montone	x	Pecora		Agnello		
Pecora	x	Montone		I ^a Classe	II ^a Classe	III ^a Classe
I ^a Classe	x	I ^a Classe	→	100	0	0
I ^a Classe	x	II ^a Classe	→	50	50	0
I ^a Classe	x	III ^a Classe	→	0	100	0
II ^a Classe	x	II ^a Classe	→	25	50	25
II ^a Classe	x	III ^a Classe	→	0	50	50
III ^a Classe	x	III ^a Classe	→	0	0	100
Evento riproduttivo				% di probabilità che la prole sia della Classe I ^a , II ^a o III ^a		

comunque, una serie di monitoraggi specifici sulla presenza di TSE su tutta la popolazione ovina della Regione (attività sviluppata da ALSS e dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie).

Relativamente alle razze autoctone del Veneto si è proceduto ad effettuare una prima indagine, prelevando, ove possibile, campioni di sangue che sono stati analizzati per la determinazione della suscettibilità alla *scrapie* degli ovini iscritti al Registro Anagrafico, sottoposti al programma di marcatura elettronica con bolo ruminale (2008-09, progetto in collaborazione con APA di Belluno e Verona e con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie).

I dati rilevati su un campione di 550 soggetti sono riportati nelle tabelle 7 e 8.

Dall'analisi dei dati riportati, è possibile evidenziare come le popolazioni di ovini autoctoni veneti siano per circa il 22% rappresentate dalle classi IV e V, ovvero da soggetti con grado di suscettibilità alla malattia medio o elevato, da circa il 49% dalla classe III (soggetti sensibili) e solo dal 24% e dal 3% circa, da soggetti delle classi II e I, rispettivamente poco sensibili e non sensibili. Tali valori sono rappresentati principalmente nelle 4 razze dai genotipi VRQ/VRQ, ARQ/VRQ e ARR/VRQ (classe V e IV, rispettivamente), ARQ/ARQ (classe III), ARR/ARQ

Tabella 7 - Tipo di genotipi rilevati e percentuali di attribuzione per Classe e Razza

Classe	Genotipo	Totale per Razza				Totale per genotipo
		Alpagota	Brogna	Vicentina	Lamon	
1	ARR/ARR	3,62	2,40	1,59	3,39	2,85
2	ARR/AHQ	2,17	0,00	1,59	0,00	0,76
	ARR/ARH	0,72	0,96	0,00	0,00	0,57
	ARR/ARK	0,00	0,00	4,76	0,00	0,57
	ARR/ARQ	24,64	21,15	22,22	27,97	23,72
3	AHQ/AHQ	0,72	0,00	1,59	0,85	0,57
	AHQ/ARH	0,00	0,00	1,59	0,00	0,19
	AHQ/ARK	0,00	0,00	4,76	0,00	0,57
	ARH/ARH	0,00	0,96	0,00	0,00	0,38
	ARK/ARQ	0,72	0,96	15,87	0,00	2,47
	ARQ/AHQ	3,62	1,44	3,17	0,85	2,09
	ARQ/ARH	0,72	4,81	1,59	5,08	3,42
	ARQ/ARQ	49,28	36,06	38,10	33,90	39,28
4	ARR/VRQ	2,90	7,21	1,59	6,78	5,31
5	AHQ/VRQ	0,72	0,00	0,00	0,00	0,19
	ARH/VRQ	0,00	2,40	0,00	1,69	1,33
	ARQ/VRQ	7,97	18,27	1,59	13,56	12,52
	VRQ/VRQ	2,17	3,37	0,00	5,93	3,23



Tabella 8 - Percentuale totale dei soggetti nelle varie razze attribuiti alle cinque Classi di rischio

Classe	% Totale per Razza				% Totale per Classe
	Alpagota	Brogna	Vicentina	Lamon	
1	3,62	2,40	1,59	3,39	2,85
2	27,54	22,12	28,57	27,97	25,62
3	55,07	44,23	66,67	40,68	48,96
4	2,90	7,21	1,59	6,78	5,31
5	10,87	24,04	1,59	21,19	17,27

e ARR/ARR (classe II e I, rispettivamente).

La razza Vicentina, inoltre, presenta alcuni genotipi rari propri, rappresentati dall'allele ARK.

In sintesi, le buone pratiche che un allevatore può adottare per migliorare la situazione del proprio allevamento possono essere riassunte in alcuni semplici azioni: tenere un registro anagrafico e di stalla aggiornato, conoscere lo stato sanitario e il genotipo dei propri animali relativamente alla suscettibilità alla scrapie (almeno dei montoni), mantenere gli ambienti di allevamento-parto puliti (lavaggio e disinfezione con ipoclorito di sodio al 2%) e provvedere a rimuovere puntualmente le placente.

L'attività del Centro di conservazione delle razze ovine di Villiago

Veneto Agricoltura, su indicazione della Regione del Veneto – Direzione Agroambiente, da alcuni anni ha attivato presso la propria azienda pilota e dimostrativa per la montagna di Villiago (Sedico, Bl) un Centro di conservazione delle 4 razze ovine autoctone (Alpagota, Lamon, Brogna e Vicentina). Attraverso alcuni progetti consecutivi sono stati formati 4 nuclei, uno per razza, acquistando riproduttori idonei e iscritti al Registro Anagrafico, presso diversi allevatori, con l'obiettivo di disporre di una sufficiente quota della variabilità complessiva della popolazione esistente. La formazione dei nuclei, costituiti da circa 30-35 pecore e almeno 6-8 arieti per razza, è stata sufficientemente semplice per Alpagota e Brogna, le due razze con maggiore popolazione e numero di allevamenti sul territorio. Per Vicentina e Lamon, la formazione dei nuclei di base ha richiesto invece alcuni anni, in considerazione della ridotta popolazione esistente e, soprattutto, del limitato numero di allevatori (ad esempio solo 2 per la razza Vicentina all'inizio del progetto). Attualmente nel Centro di conservazione sono mediamente presenti circa 160 riproduttori tra pecore (120-130 capi) e arieti (40-50 capi tra adulti e giovani da rimonta). Ogni nucleo-razza è stato successivamente diviso in 2 famiglie, allo scopo di

migliorare la gestione della riproduzione nella fase degli accoppiamenti programmati e, possibilmente, aumentare la variabilità complessiva del gruppo allevato.

Il Centro dispone attualmente di una stalla (ex bovini da latte, modificata) con 10 box su lettiera permanente e altrettanti paddok esterni con pavimento di cemento, di libero accesso da parte degli animali. La corsia di foraggiamento è centrale, con due linee mangiatoia con rastrelliera di autocattura per 220 capi; inoltre, limitrofe all'allevamento vi sono due aree di pascolo, utilizzabili nel periodo primaverile-estivo.

Da alcuni anni, essendo tutte le attività dell'azienda Villiago sviluppate secondo il metodo di agricoltura biologica, anche i nuclei di ovini sono gestiti in biologico (alimenti, interventi veterinari, gestione del benessere animale, ecc.).

L'alimentazione dei riproduttori si basa essenzialmente sull'utilizzo di foraggi essiccati (fieno aziendale di prato polifita) e pascolo, con integrazione di un mangime biologico in 2 periodi: per le prime due settimane di accoppiamento e durante l'allattamento. L'integrazione della razione alimentare con il mangime al momento dell'accoppiamento (indicativamente da 100 a 300 g/capo/giorno), in base allo stato di ingrassamento o condizione corporea delle pecore durante la monta, ha un effetto positivo sull'induzione dell'estro, sull'aumento



dell'ovulazione e probabilmente anche sui concepimenti.

Successivamente, durante i mesi centrali della gravidanza, l'alimentazione è costituita essenzialmente da foraggio, oltre all'integrazione minerale resa disponibile attraverso blocchi di sali che gli animali possono utilizzare liberamente.

L'integrazione con mangime riprende nell'ultimo mese di gravidanza, se ritenuto necessario (molte gravidanze gemellari, animali sottopeso, ecc.) e prosegue dopo il parto (indicativamente 300-400 g/capo/giorno) fino allo svezzamento. La reintroduzione del mangime nella razione va sempre effettuata in modo graduale durante la prima settimana fino al raggiungimento della quantità ritenuta idonea. Il razionamento, così come la scelta del tipo di fieno o la quantità di mangime (o farine di cereali, crusca, ecc.) viene definito in base alla condizione corporea delle pecore. Questo parametro, noto anche come BCS o *body condition score*, si valuta attraverso l'osservazione e soprattutto la palpazione di punti specifici, come ad esempio i processi spinali delle vertebre lombari, le creste iliache del bacino, groppa e attacco della coda, processi ischiatici, ecc. La condizione corporea viene definita su una scala di 6 classi: da 0 (animale molto magro, in pessima condizione generale) a 5 (soggetto eccessivamente grasso); normalmente si ritiene che a valori di 3-4 corrisponda una buona condizione corporea delle pecore per il periodo di monta.

Gli agnelli si alimentano liberamente con il latte materno fino allo svezzamento, ma già dall'inizio del secondo mese di età hanno a disposizione una miscela di cruscami e cereali fioccati (orzo e mais) posti in un'area delimitata ad accesso vincolato solo a loro; inoltre, possono alimentarsi liberamente e gradualmente con fieno di buona qualità.



Gestione della riproduzione

La gestione della riproduzione rappresenta certamente la parte più importante dell'attività di conservazione dei nuclei allevati.

Essa è pianificata su base annuale (1 parto per anno), senza forzature o sincronizzazioni farmacologiche degli estri: accoppiamenti (settembre-ottobre), parti (febbraio-marzo), allattamento fino a 100-110 giorni e successivo svezzamento degli agnelli (maggio-giugno) e periodo di asciutta (circa 3 mesi) delle pecore fino a nuovo accoppiamento. Gli agnelli vengono seguiti individualmente, marcati con marca auricolare, ripetutamente pesati (alla nascita e indicativamente verso i 30-60-90 giorni di età e allo svezzamento). Al momento dello svezzamento viene fatta una prima valutazione da parte dei tecnici dell'azienda, che sarà ripetuta formalmente in collaborazione con gli esperti di razza indicati dalle Associazioni allevatori (APA_ARAV) all'età di 6-7 mesi. I soggetti non conformi allo standard di razza non sono iscrivibili al Registro Anagrafico e quindi avviati alla macellazione; quelli idonei (agnelle e giovani arieti) vengono iscritti e marcati con bolo ruminale dotato di microchip a lettura passiva a distanza.

Parte dei giovani riproduttori viene utilizzata in azienda come rimonta e la rimanente messa a disposizione degli allevatori interessati all'allevamento di queste razze.

Formazione dei gruppi di monta

Nel periodo di asciutta le pecore e gli arieti sono allevati in aree separate, senza possibilità di contatto, anche visivo; questo permette di ottenere una buona sincronizzazione naturale degli estri, al momento della formazione dei gruppi di monta. I gruppi (2 per razza) sono formati al momento delle monte imbrancando le pecore con un montone, al quale è stato applicato un tampone di gesso colorato a livello sterno-ventrale mediante cinghie retro-scapolari. Con questo sistema il montone lascerà una striscia di colore sul dorso delle pecore montate, così da essere facilmente individuabili visivamente; la registrazione della data di monta risulta utile al fine di determinare la paternità degli agnelli. Per ogni gruppo di monta vengono impiegati 3 arieti in periodi successivi; ogni turno di monta dura indicativamente 8-12 giorni per i primi due, e 20-25 per l'ultimo, questo al fine di poter intercettare le pecore con estro ritardato o eventuali ritorni in calore.

Si è notato come il cosiddetto "effetto maschio" nella sincronizzazione dei calori delle pecore sia molto efficace; spesso questo comporta una percentuale elevata di concepimenti dalle monte del primo periodo rispetto al secondo e al terzo (indicativamente 50-60% per il primo, 20-30% per secondo e solo 10-20% per il terzo ariete). Al fine di ottenere



un maggior bilanciamento dei concepimenti ottenuti, i periodi di monta dei primi due arieti sono ridotti rispetto al terzo.

Con due gruppi di monta per razza e tre arieti utilizzati per ogni gruppo, è possibile ottenere ogni anno una prole proveniente da 6 maschi/razza; questo permette di conservare un'ampia variabilità nei nuclei in conservazione e tenere controllato il livello di consanguineità nella popolazione. Quest'ultimo aspetto viene tenuto sotto controllo anche attraverso una continua sostituzione e interscambio di arieti con altri allevamenti iscritti al Registro Anagrafico, che in questi anni si sono collegati al Centro di conservazione di Villiagio, allo scopo di formare una prima rete di cosiddetti "allevamenti custodi" della razza.



Ariete di Alpagota con cinghie porta-gesso

Diagnosi di gravidanza

Terminato il periodo degli accoppiamenti programmati, e comunque già dopo 35-40 giorni dall'inserimento del primo ariete, si procede alla diagnosi di gravidanza attraverso un esame ecografico. Semplice e poco costoso, permette di effettuare la diagnosi di gravidanza già dopo un mese dal presunto accoppiamento, consentendo così di conoscere se si tratta di gravidanza singola o gemellare.

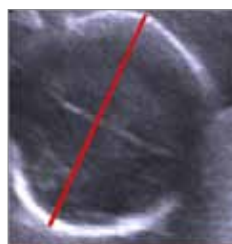
I vantaggi di una diagnosi precoce sono diversi:

- separare le pecore gravide da quelle non gravide, e continuare la monta solo con queste ultime;
- prevedere la probabile data di parto;
- suddividere le pecore per gruppi omogenei in base al tipo di gravidanza (singola, gemellare o trigemina) ed effettuare un'alimentazione idonea ai fabbisogni dei diversi gruppi.

L'ecografia permette inoltre di monitorare tutta la gravidanza e in particolare lo sviluppo del feto e dei placentomi, ovvero i punti di scambio del sangue a livello placentare tra la madre e il feto. Una buona vascolarizzazione del feto è infatti fondamentale per fornire i nutrienti necessari per lo sviluppo e l'ossigeno necessario per i processi metabolici.

Attraverso successivi esami ecografici (a 60, 90 e 120 giorni dall'accoppiamento) è possibile valutare lo stato di salute del/dei feto/i, e il loro corretto sviluppo; ciò avviene attraverso l'osservazione del battito cardiaco (ecografo con funzione doppler) e la misurazione del diametro della testa (diametro biparietale a livello delle orbite del feto).

Tali osservazioni permettono di acquisire importanti informazioni sull'andamento della gestazione, così da poter valutare eventuali correzioni dell'alimentazione delle pecore nel caso lo sviluppo del feto non risulti adeguato. Infatti, le pecore con gravidanze gemellari necessitano spesso di un supplemento alimentare, in modo da ottenere agnelli con un peso sufficiente alla nascita; questi soggetti risulteranno più vitali nelle prime ore di vita, quando è più importante iniziare a succhiare velocemente il colostro dalla madre. Agnelli sottopeso, con ridotta vitalità, in assenza di adeguata assistenza da parte dell'allevatore, assumeranno una ridotta quantità di colostro e in un tempo più prolungato, con il rischio di essere maggiormente esposti nei primi giorni di vita all'insorgenza di patologie intestinali, principale causa di mortalità neonatale.



Diametro biparietale della testa su feto mediante immagine ecografica (Sx) e in vivo (Dx)

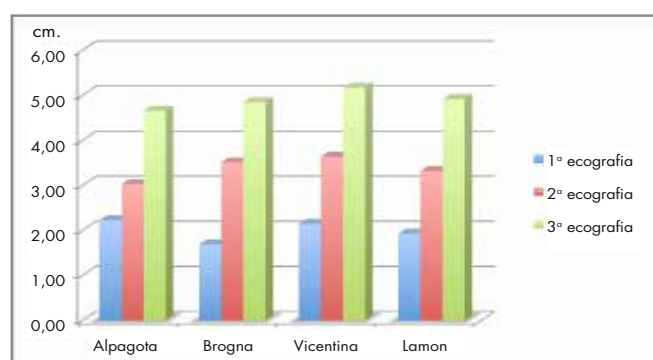


Figura 3 - Misure del diametro biparietale della testa del feto, in 3 ecografie successive, in nuclei di pecore delle 4 razze venete presenti presso il Centro di conservazione di Villiagio.

Nella tabella 9 sono riportati i valori medi delle consistenze e performance riproduttive dei nuclei presenti presso il Centro di conservazione di Villiagio (2008-2010).



Tabella 9 - Performance riproduttive medie dei nuclei in conservazione presso il Centro di Villiagio

		Alpagota	Brogna	Vicentina o Foza	Lamon
Pecore	N. capi mediamente presenti	33	27	32	27
	% rimonta/nucleo/anno	21	14	21	36
Parti	N. parti/nucleo/anno	31	25	23	19
	% singolo	53	38	76	77
	% gemellare	47	57	24	23
	% plurigemellare	0	5	0	0
Agnelli	N. capi mediamente presenti	45	42	28	24
	% nati vivi	99	97	96	99
	% nati morti	1	3	4	1
	% morti (entro 2 giorni dal parto)	4	4	8	3
	% morti (dal 2° giorno in poi)	9	8	2	6
	% svezzati	86	85	86	90
	% maschi	56	50	51	48
	% femmine	44	50	49	52

Tabella 10 - Pesi medi degli agnelli delle 4 razze in conservazione presso il Centro di Villiagio

		Alpagota		Brogna		Vicentina o Foza		Lamon	
Età alla pesata		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
	N. capi*	95	107	98	107	59	58	40	41
alla nascita	media	4,02	3,75	3,91	3,84	5,09	4,57	4,59	4,6
	DS	± 1,13	± 0,79	± 1,28	± 0,83	± 1,53	± 1,01	± 0,83	± 1,00
a circa 30 gg	media	7,69	8,18	8,91	8,38	10,51	10,16	11,91	10,51
	DS	± 1,87	± 2,34	± 2,63	± 2,64	± 3,60	± 2,57	± 2,51	± 2,17
a circa 60 gg	media	11,52	11,57	11,12	11,22	14,73	15,42	15,34	14,63
	DS	± 3,36	± 3,20	± 3,88	± 2,83	± 4,66	± 3,79	± 4,50	± 3,40
a circa 90 gg	media	18,03	18,35	18,91	17,95	22,93	22,59	23,93	21,37
	DS	± 4,26	± 3,75	± 5,04	± 4,29	± 6,15	± 5,04	± 4,82	± 4,83
a circa 120 gg	media	22,26	21,34	20,91	21,39	27,83	25,44	27,77	24,79
	DS	± 4,19	± 4,49	± 5,19	± 4,68	± 6,01	± 5,23	± 6,07	± 5,45

Legenda: ♂ = maschio / ♀ = femmina; unità di misura delle pesate = kg, numero di capi = valore assoluto

*Le medie delle pesate successive possono non corrispondere al medesimo numero di capi



La presenza media di pecore per nucleo-razza è di circa 30 capi, con un'incidenza della quota di rimonta annua (agnelle) variabile in funzione della popolazione esistente; per Lamon e Vicentina la rimonta è sempre superiore allo scopo di aumentarne il nucleo, limitando però il grado di consanguineità. I dati sulle nascite confermano la maggiore prolificità di Brogna (con presenza significativa di parti trigemini) e secondariamente di Alpagota, rispettivamente con 57 e 47% di parti gemellari, rispetto a Lamon e Vicentina, per le quali non si supera il 25%. La buona produzione di latte e l'attitudine materna permettono a Brogna e Alpagota di portare a svezzamento con un buon peso medio gli agnelli da parto gemellare; più difficile risulta l'accrescimento nei parti trigemini, dove può essere necessario un supplemento con latte artificiale. In tabella 10 sono riportati i valori medi di accrescimento (per razza e sesso) degli agnelli alla nascita e all'età indicativa di 30-60-90 e 120 giorni (dati di 1.935 pesate). In generale, relativamente al peso degli agnelli, è possibile dividere le razze in due gruppi omogenei: da una parte Alpagota e Brogna, dall'altra Vicentina e Lamon. Le prime due hanno medie di pesi inferiori per ogni classe d'età, tra cui la razza Brogna presenta pesi leggermente più elevati; le altre due, invece, presentano soggetti più pesanti per ogni classe d'età. Un altro effetto che risulta essere molto evidente già dalla prima pesata è la gemellarità. I soggetti nati da parto singolo mostrano una media di peso più elevata rispetto a soggetti gemellari o trigemini per tutte e quattro le pesate, anche se per le razze Vicentina e Lamon le differenze tra i soggetti gemellari e quelli singoli sono meno evidenti. Per quanto concerne il sesso, i maschi nati da parto singolo mostrano migliore accrescimento rispetto alle femmine nate da parti gemellari o trigemini.

La conservazione *ex situ* delle razze ovine

Spesso, quando si parla del rischio di scomparsa delle razze o popolazioni animali a limitata diffusione, si fa riferimento alla possibilità di conservarle anche attraverso le cosiddette tecniche *ex situ*, includendo tra queste anche la crioconservazione. La conservazione *ex situ* si rende necessaria quando nell'area di origine della razza o in quelle limitrofe non esiste un sufficiente numero di allevatori interessati all'allevamento di questi animali; in questi casi per non perdere completamente la razza, i nuclei di soggetti rimasti vengono conservati in purezza presso aziende di enti pubblici, come le scuole di agraria, i parchi, o le aziende regionali,

ecc., anche lontano dall'area di origine. Oltre alla conservazione della razza "*in vivo*" attraverso l'allevamento di nuclei in purezza, è possibile cercare di limitare la perdita del suo patrimonio genetico, dovuta essenzialmente alla riduzione della variabilità genetica e fenotipica, collegate al ridotto numero di animali conservati, (come già indicato precedentemente nello specifico capitolo) attraverso la crioconservazione di *materiali da riproduzione* utilizzabili nel prossimo futuro.

La crioconservazione è un metodo ben collaudato che permette di conservare a basse temperature (normalmente in idonei contenitori di azoto liquido a -196 °C) e previa opportuna preparazione lo sperma, gli oociti e gli embrioni.

Il materiale seminale è comunemente utilizzato nella creazione delle cosiddette "*banche del seme*" o del germoplasma animale, utilizzate soprattutto nei programmi di miglioramento genetico delle razze zootecniche comunemente allevate, e più recentemente, anche per le razze a limitata diffusione a rischio di scomparsa.

Allo stato attuale purtroppo, lo Stato Italiano non si è ancora dotato di una "banca nazionale del germoplasma animale", pur essendo ben presente questa necessità per la conservazione della biodiversità delle molteplici razze e popolazioni ad oggi censite e sottoposte da tempo a forte erosione genetica. Tale criticità è stata ben evidenziata anche dal Piano Nazionale della Biodiversità (MIPAAF, 2008), il quale prevede l'avvio di 2 centri specializzati alla raccolta, preparazione e conservazione di questi materiali; ad oggi però non sono ancora state avviate le procedure di individuazione di queste strutture.

Valutando l'attuale situazione critica delle 4 razze ovine venete, Veneto Agricoltura con la collaborazione del Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università degli Studi di Padova, ha recentemente avviato in via sperimentale, la raccolta di materiale seminale da un gruppo di arieti iscritti al Registro Anagrafico, al fine di stoccarlo come riserva per eventuali usi futuri nei programmi di conservazione di queste popolazioni.

All'interno delle 4 popolazioni considerate gli arieti rappresentano una piccola quota dei riproduttori; spesso gli allevatori preferiscono mantenere per più anni gli stessi arieti o scambiarli con i vicini, e questo causa una sensibile riduzione della variabilità genetica complessiva della popolazione, con grave rischio per la sopravvivenza della stessa.

La raccolta di materiale seminale può avvenire in due modi: nel metodo classico, prelevando in vivo dall'ariete al momento del salto per l'accoppiamento, oppure con una tecnica alternativa basata sul prelievo dai testicoli di arieti a fine carriera avviati alla macellazione.



Prelievo di materiale seminale in vivo

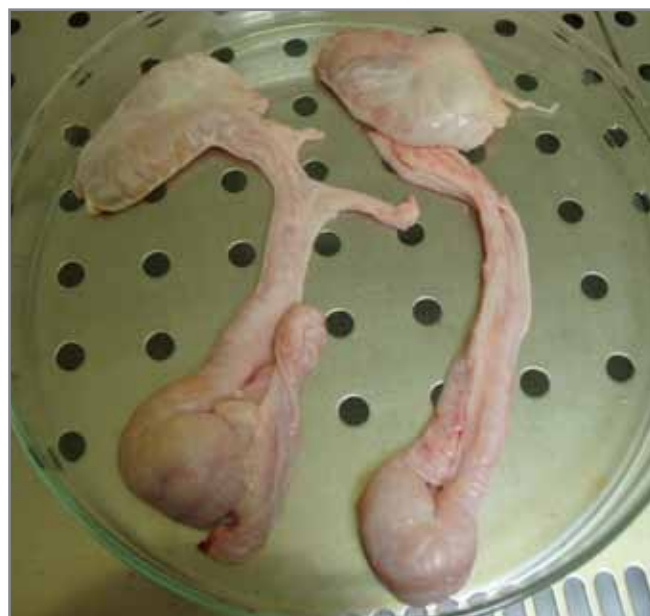
Generalmente il prelievo di seme in vivo è attuato su arieti che presentano importanti caratteristiche genetiche che si vogliono mantenere e/o distribuire nella popolazione. Per le razze a limitata diffusione, è importante raccogliere e conservare il materiale seminale da un numero minimo di arieti (almeno 40-50 per razza) iscritti al Registro Anagrafico e che rappresentino possibilmente un'elevata quota della variabilità genetica e fenotipica (caratteri esteriori) intrinseca della popolazione allevata. Gli arieti utilizzabili a questo scopo devono obbligatoriamente essere puberi, esenti dalle patologie trasmissibili e clinicamente sani.

Il materiale seminale viene prelevato dopo un adeguato addestramento con una vagina artificiale disegnata specificatamente per gli ovicapri. Tale vagina artificiale viene preparata con caratteristiche di pressione interna e temperatura che facilitino l'eiaculazione e l'ottenimento del seme. Il seme viene mantenuto a 37 °C e sottoposto a valutazione visiva macroscopica: misura del volume, colore, presenza di tracce di sangue o di odori anomali di urina; successivamente, con l'osservazione microscopica vengono valutati i parametri spermatici che ne determinano la congelabilità. I principali parametri valutabili sono: motilità di massa di spermatozoi (con punteggio variabile da 0 a 5), vitalità degli spermatozoi (test dell'iposmolarità), integrità di membrana, capacitazione, integrità cromosomica. I campioni ottenuti con una concentrazione maggiore di 3 miliardi di spermatozoi/ml e un punteggio di motilità di massa maggiore di 3 sono considerati idonei per la preparazione di dosi da sottoporre al congelamento. I campioni selezionati vengono successivamente diluiti in due fasi utilizzando degli additivi per la nutrizione (soluzione TRIS e tuorlo d'uovo nella prima fase) e la protezione (glicerolo al 7%) degli spermatozoi per la crioconservazione. Il seme diluito viene aspirato in "cannucce" (paillettes o straws), tubi di plastica crio-resistenti, da 0,25 o da 0,5 ml, ad una diluizione finale di 80 milioni di spermatozoi per cannuccia. Dopo la chiusura, le cannucce vengono condizionate a 4 °C per 2 ore e successivamente esposte a vapori d'azoto (a -75 °C) per 5 minuti prima di essere immerse definitivamente in azoto liquido (-196 °C). Alcune dosi di seme vengono successivamente scongelate in bagnomaria a 37 °C per 30 secondi, al fine di valutare sia le caratteristiche spermatiche post congelamento e scongelamento, sia le procedure di preparazione adottate. Le dosi di seme così conservate sono utilizzabili quando necessario per inseminare le pecore, che devono essere opportunamente preparate, ovvero con estro sincronizzato farmacologicamente. L'inseminazione artificiale negli ovini avviene princi-

palmente per via laparoscopica, cioè depositando il seme direttamente a livello delle corna uterine vicino all'ovidotto dove avverrà la fecondazione.



Raccolta del materiale seminale con vagina artificiale durante l'accoppiamento



Epididimi testicolari preparati per il prelievo



Analisi microscopica per fluorescenza delle caratteristiche degli spermatozoi



Prelievo di materiale seminale dai testicoli

Si tratta di un metodo abbastanza innovativo e non molto utilizzato, ma che ben si presta agli obiettivi di conservazione delle popolazioni a limitata diffusione, dove sia necessario raccogliere e conservare una sufficiente quantità di materiale seminale.

I testicoli degli arieti a fine carriera vengono prelevati in linea di macellazione e conservati in una soluzione fisiologica a temperatura controllata e trasportati presso un laboratorio per la lavorazione. Il materiale seminale viene raccolto dall'epididimo, il tratto iniziale del dotto escretore dei testicoli, dove gli spermatozoi transitano dopo essersi formati a livello del parenchima testicolare; in questa porzione anatomica quindi si possono trovare spermatozoi a diverso stadio di maturazione. Dopo averlo separato dal testicolo, l'epididimo viene aperto attentamente in condizioni di sterilità e il materiale seminale raccolto mediante il taglio dei tubuli seminiferi; questo viene prima miscelato con una soluzione idonea al suo mantenimento (comunemente definito mestruo) e successivamente sottoposto a valutazione qualitativa.

Nell'analisi microscopica il materiale seminale viene valutato in base a diversi parametri (concentrazione di spermatozoi, motilità prima e dopo l'aggiunta di glicerolo, presenza di malformazioni, ecc.) al fine di definirne la qualità complessiva e il numero di dosi utili ottenibili da sottoporre a crioconservazione. In base all'esperienza attuale, sembra possibile produrre circa 40-50 dosi (paillettes) del volume di 0,25 ml e con una concentrazione finale di 400 milioni spermatozoi/ml, utilizzando entrambi i testicoli-epididimi.

Uno degli aspetti critici da considerare nella crioconservazione di seme epididimale riguarda la successiva potenzialità fecondante degli spermatozoi post scongelamento. Si è osservata una motilità degli spermatozoi post scongelamento mediamente buona, pari al 25-30% del totale; tale aliquota sembra sufficiente per fecondare gli ovuli, quando correttamente utilizzata nella fase di inseminazione strumentale.

Valorizzare i prodotti per conservare la razza

Il rapido abbandono dell'allevamento delle razze ovine venete, oltre che a fenomeni socioculturali collegati all'attività della pastorizia è certamente riconducibile anche al ridotto reddito che questa attività poteva fornire alle aziende agricole di montagna, in relazione ad altre attività o allevamenti più redditizi. La parziale compensazione dei minori redditi perce-

piti dall'allevamento di queste razze in confronto con quelle di maggiore diffusione, prevista da una quindicina di anni dalle misure a sostegno della biodiversità del Programma di Sviluppo Rurale, non sembra abbia inciso nel modo sperato. L'importo erogato agli allevatori è tuttora troppo esiguo, non tiene conto della numerosità della popolazione (sarebbe infatti utile modularlo in funzione delle reali dimensioni delle razze) e rappresenta un minimo incentivo soprattutto per le aziende medio-piccole, che giocano invece un ruolo importante al fine della conservazione della razza. D'altra parte, non sembra né realistico né utile basare la conservazione di una razza a limitata diffusione solo sulla possibilità di ottenere maggiori compensazioni pubbliche; risulta quindi necessario che gli allevatori interessati alla conservazione della loro razza ovina, sviluppino azioni alternative in grado di valorizzare al massimo la specificità e la qualità dei prodotti dei loro animali.

Per quanto riguarda le razze ovine venete, questa possibilità è percorribile attualmente solo per le razze Alpagota e Brogna, le quali dispongono di una popolazione che, anche se non di grande dimensione, può offrire quella *minima massa critica di prodotto* necessaria per l'avvio di azioni di promozione e per lo sviluppo di microfilieri locali. Per le razze Lamon e Vicentina, considerate le esigue popolazioni esistenti, le azioni devono essere prioritariamente incentrate nell'aumentare la dimensione della razza, mantenendo in vita tutte le femmine e parte degli arieti conformi allo standard. Un possibile *benefit economico* ottenibile dagli animali di queste due razze è probabilmente collegato al loro utilizzo all'interno delle fattorie didattiche o sociali, ovvero in aziende che sviluppano anche attività non tipicamente agricole e produttive. La presenza di questi animali si presta bene allo sviluppo di cosiddetti "percorsi formativi o dimostrativi" basati sui temi della biodiversità, della lavorazione artigianale della lana, e così via.

Un interessante esempio di promozione dei prodotti e conseguentemente della razza è riscontrabile nelle azioni sviluppate dagli allevatori dell'Alpago (Belluno). Da diversi anni un gruppo molto motivato di allevatori ha costituito un'associazione locale (*Fardjma*) a sostegno della razza Alpagota e per la promozione dei suoi prodotti (carne e lana). Successivamente, grazie al supporto di Slow Food e al sostegno di alcuni progetti regionali, è stato possibile promuovere la carne di agnello, creando uno specifico marchio, e la denominazione di *Presidio Slow Food* per l'Agnello d'Alpago.

L'obiettivo è quello di produrre un agnello da pecore di razza Alpagota durante tutto l'anno (avendo quindi parti destagionalizzati), allevato allo stato brado o semibrado, alimentato principalmente con il latte materno per 2-3 mesi, e secondariamente con erba





Anelli della filiera per la valorizzazione della carne di agnello

o fieno (in funzione della stagione) ed eventualmente anche con piccole quantità di sfarinati di cereali. Da questo agnello macellato a un peso vivo indicativo da 18 a 28 kg, si ottiene una carcassa e una carne di pregiata qualità, molto apprezzata dai consumatori per la tenerezza e gustosità.

In questo modo, passo dopo passo e non senza difficoltà, si è avviata una microfiliera locale che attualmente include allevatori, macello e laboratorio di sezionamento della carcassa, fino ad arrivare ai consumatori (macellerie e ristoranti). Uno degli strumenti che hanno maggiormente inciso nello sviluppo della microfiliera è stato senza dubbio il coinvolgimento fin dall'inizio di un gruppo di ristoranti locali di alto profilo.

Il ristorante, come parimenti la macelleria di alta qualità, sono veicoli importanti attraverso i quali possono transitare le informazioni sul prodotto e sulle sue specificità, arrivando direttamente al consumatore finale. L'informazione, sviluppata anche attraverso appositi eventi divulgativi o con la distribuzione di brochure, è necessaria sia per far conoscere il prodotto che per giustificare il prezzo, che deve risultare maggiore rispetto ad altri prodotti simili (carne di agnello di altre razze o d'importazione) per poter fornire un maggior reddito all'allevatore della razza Alpagota. Diversamente dalla carne, più complicata è risultata invece la valorizzazione della lana prodotta dalle due tose annuali delle pecore. La qualità non certo elevata del vello e dei filati, la mancanza nell'area di strutture di prima lavorazione della lana sucida, e soprattutto il valore di mercato costantemente basso della lana filata (in riferimento allo standard delle lane tipo merinos), ne hanno reso finora antieconomica ogni forma di utilizzo. Infatti, gli alti costi di lavorazione rilevati, anche in progetti mirati sviluppati in regioni limitrofe, sembrano dimostrare come, allo stato attuale, sia problematico individuare un percorso economicamente sostenibile per la valorizzazione di questo prodotto, di grande interesse in passato. Probabilmente un utilizzo *"alternativo al filato"* della lana di queste razze locali, ad esempio la produzione di feltri, lane-cotte, materassi oppure di gadget ad utilizzo turistico, potrebbe meglio rispondere all'attuale realtà di mercato.

Non sempre però queste esperienze possono essere mutate e trasferite ad altre realtà, anche se apparentemente simili, senza tener conto delle specificità culturali e socio-economiche locali. Non esistono pertanto format precostituiti di valorizzazione della razza locale attraverso i suoi prodotti, ma ogni azione deve essere studiata e pianificata in stretto rapporto con gli operatori locali, non solo tra allevatori, ai quali ovviamente è richiesta una buona dose di passione, entusiasmo e soprattutto capacità di collaborare insieme per raggiungere un obiettivo comune.



Glossario

Adattamento: caratteristica di una specie, razza o popolazione animale, determinata geneticamente, che aumenta la capacità di un organismo di mantenere invariate negli anni le proprie prestazioni (produttive, riproduttive e di fitness) nei diversi ambienti in cui vive.

Allele: è la variante di un gene ovvero una sequenza di DNA codificante; l'insieme di tutti gli alleli posseduti da un individuo ne costituisce il genotipo. In un organismo diploide, ovvero dove sono presenti due copie di ogni cromosoma, il genotipo è dunque costituito da due alleli.

Attitudine materna: insieme dei comportamenti sviluppati da una madre-fattrice che permettono di portare la prole allo svezzamento naturale.

Biodiversità: (o diversità biologica) è la varietà della vita in tutte le sue forme, livelli e combinazioni. In particolare, per biodiversità zootecnica si intende l'insieme delle specie e razze animali di interesse zootecnico che si sono andate differenziando sulla base di spinte selettive degli allevatori. In questo senso, oltre alla selezione naturale (parzialmente presente) si aggiungono importanti spinte di tipo estetico, produttivo, gestionale, ambientale del tutto artificiali o comunque controllate dall'allevatore, che modificano il fenotipo del progenitore selvatico verso forme del tutto diverse.

Consanguineità: accoppiamento tra animali con uno o più ascendenti in comune e con un grado di parentela più alto rispetto a quello medio riscontrabile nella popolazione; il suo valore, espresso come coefficiente di consanguineità, è pari a metà della parentela tra i due genitori.

Conservazione in vivo: mantenimento di una popolazione di individui viventi nell'area di origine (*in situ*) o, quando trattasi di pochi individui, in centri di conservazione, zoo-parchi o aziende appositamente progettate (*ex situ*).

Crioconservazione: conservazione di germoplasma sotto forma di tessuti, seme, oociti o embrioni per tempi lunghi, a temperature bassissime (tra -170 e -196 °C in azoto liquido) per consentirne il successivo utilizzo per ottenere animali viventi e vitali.

Cromosomi: sono presenti in numero variabile nel nucleo delle cellule delle diverse specie, è una porzione ampia di DNA che costituisce la struttura base del genoma.

Deriva genetica: fluttuazioni casuali delle frequenze geniche osservate nel corso delle generazioni che tendono a ridurre la variabilità genetica complessiva della popolazione considerata.

Diversità genetica: è l'insieme delle differenze tra specie, tra le razze entro una specie, e tra singoli individui all'interno della stessa razza, espresse come conseguenza delle differenze genetiche.

DNA: sigla dell'acido desossiribonucleico, macromolecola a doppia elica che determina l'informazione genetica in tutte le cellule degli organismi superiori.

Embrione: animale allo stadio iniziale dello sviluppo che non ha ancora assunto una forma anatomica tale da renderlo riconoscibile come membro della sua specie.

Estinzione: una razza è considerata estinta quando non ci sono più riproduttori maschi o femmine. Può però esistere del materiale genetico crioconservato attraverso il quale si può ricreare la razza. In realtà una razza può essere considerata estinta anche prima che si perda l'ultimo animale vivente o il materiale genetico.

Eterozigosità: è l'unità di misura maggiormente utilizzata negli studi di genetica di popolazione per valutare l'entità della variabilità genetica.

F_statistico: introdotto da Wright (1951), è un metodo statistico molto utilizzato per descrivere la genetica delle popolazioni animali, attraverso tre coefficienti di F, utilizzati per distribuire la variabilità genetica complessiva in 3 frazioni, ovvero a livello di popolazione (T), di suddivisioni (S) e di individui (I).

FIS = è una misura della deviazione dalle proporzioni dell'equilibrio Hardy-Weinberg delle sottopopolazioni; FIT = è una misura della deviazione come la precedente, solo riguardante la popolazione totale di individui; Per entrambi i coefficienti, i valori positivi indicano un difetto di eterozigoti, e viceversa un eccesso; FIS e FIT sono spesso chiamati genericamente *indici di fissazione*.

FST = è una misura del differenziamento genico tra diverse sottopopolazioni ed è sempre positivo; può essere interpretato come una misura della varianza standardizzata delle frequenze alleliche tra sottopopolazioni.

Questi tre coefficienti sono legati dalla relazione: $FST = (FIT - FIS) / (1 - FIS)$

Misure dell'eterosi necessarie per la F-Statistics.

HI = eterozigosità osservata (proporzione di eterozigoti) in una sottopopolazione.

HS = eterozigosità attesa in una sottopopolazione; se esistono i differenti alleli in un locus in una sottopopolazione (p_i è la frequenza dell'*i*-esimo allele)

HT = eterozigosità attesa nell'ipotesi di "accoppiamento casuale" dell'intera meta-popolazione (p_i medio = frequenza media dell'*i*-esimo allele).

L'indice FST permette di valutare quanto siano differenziate le sottopopolazioni; formalmente misura l'esistenza di un deficit di eterozigoti nella meta-popolazione dovuto a un differenziamento tra le sottopopolazioni. FIS misura, quando esiste, in media, un deficit o un eccesso di eterozigoti nella sottopopolazione; FIT, invece, indica quanto la struttura della popolazione abbia influenzato l'eterozigosi.

Fertilità: capacità di un individuo di riprodursi; l'assenza di fertilità si definisce "sterilità".

Frequenza allelica: indica la misura della frequenza relativa di un allele su un locus genetico nella popolazione.



Di solito si esprime come proporzione o percentuale. Nella genetica delle popolazioni, le frequenze alleliche esprimono la diversità genetica di una popolazione all'interno di una specie e/o la ricchezza del suo pool genetico. La frequenza allelica è definita come la frazione o la percentuale di loci che l'allele occupa nella popolazione.

Gene: è l'unità dell'eredità; è costituito da un tratto di DNA sul cromosoma, contenete le informazioni genetiche che saranno trascritte nell'RNA e poi tradotte in una catena polipeptidica (struttura base delle proteine) con specifiche funzioni fisiologiche. Un gene può mutare in diverse forme chiamate alleli.

Genoma: definisce complessivamente il DNA strutturato nei cromosomi contenuti nel nucleo di una cellula.

Germoplasma: tutto ciò che è utile e utilizzabile per l'allevamento, la ricerca e la conservazione (tessuti, seme, oociti, embrioni, animali giovani, animali adulti).

Inseminazione artificiale (IA): procedimento che consiste nel mettere artificialmente a contatto un gamete maschile (spermatozoo) e uno femminile (ovulo) con conseguente formazione di uno zigote, sia in vitro, sia nell'organismo materno

Locus-Loci: posizione definita nel genoma, ad es. su un cromosoma.

Microsatelliti: sono sequenze ripetute di 1-6 paia di basi e sono in genere altamente polimorfici.

MtDNA: sigla del DNA mitocondriale, presente nei mitocondri, organuli presenti nel citoplasma delle cellule di un individuo, derivano dalla madre. È una forma di eredità materna o extra-nucleare (detta anche citoplasmatica) di un carattere.

Mutazione: evento che provoca un cambiamento nella sequenza di DNA nel cromosoma di un individuo; di conseguenza, la sequenza dei geni non è più identica a quella ereditata dai genitori. Se avviene nelle cellule germinali, viene trasmessa ai figli. Le mutazioni sono causate da irregolarità nei processi cellulari e possono introdurre nuova variabilità genetica in una popolazione.

Omozigote: un individuo con due copie dello stesso allele in un locus (normalmente espresso come aa o AA).

Parentela: tecnicamente è la covarianza tra il valore riproduttivo di due individui. Il valore della parentela è dato anche dal doppio del valore del coefficiente di kinship tra due individui.

Pedigree: insieme delle relazioni note tra genitori e figli in una popolazione (spesso rappresentato come albero genealogico).

PIC: sigla di Polymorphic Information Content. L'informazione del contenuto polimorfico è la misura di quanto

un marcatore (sequenza di basi, simile a quella che si individua in un gene) è informativo, e si basa sul grado del polimorfismo del marcatore stesso.

Polimorfismo (Polimorfico): quando due alleli a un dato locus portati da un individuo (uno ereditato dalla madre ed uno dal padre) sono diversi.

Razza autoctona (nativa, indigena): originatasi, e inizialmente riconosciuta, in una determinata zona o regione (detta anche area di origine) dove continua a essere successivamente allevata. Possono essere considerate autoctone anche le razze "localmente adattate", cioè quelle che sono presenti in un Paese/Regione per un periodo di tempo lungo e comunque sufficiente a renderle geneticamente adattate a uno o più sistemi produttivi tradizionali dell'area considerata.

Razza introdotta: non appartenente al territorio o all'area di allevamento, introdotta in un ambiente diverso da quello di selezione o di origine per i più diversi motivi (produzione, sperimentazione, conservazione della biodiversità, etc.).

Razza (attribuzione di un soggetto ad una razza-popolazione mediante metodi molecolari): l'assegnazione di un soggetto ad una razza utilizzando metodi molecolari può essere effettuata essenzialmente attraverso due strategie:

A) mediante un approccio *deterministico*; prevede la ricerca di marcatori molecolari specifici di una razza e/o di geni con differenti varianti alleliche fissate in razze. La presenza di tali sequenze specifiche permetterebbe il loro utilizzo mediante test diagnostici semplici e l'assegnazione di un individuo a una razza avverrebbe in modo certo;

B) con approccio di tipo *probabilistico*: questo metodo prevede la creazione di un database di più razze tipizzate con marcatori molecolari e quindi contenente informazioni sugli alleli e sulle frequenze alleliche caratteristiche di ciascuna razza. L'individuo, di origine incerta e da assegnare, viene analizzato attraverso i marcatori molecolari, successivamente la sua attribuzione a una specifica razza avviene in modo probabilistico (attraverso le frequenze alleliche di ciascuna razza oppure dalle distanze genetiche tra le diverse razze). Per gestire questo metodo sono disponibili diversi programmi per computer (ad es. il software STRUCTURE).

Selezione massale: tecnica che prevede l'individuazione e la selezione del tipo prevalente diffuso in una popolazione.

SNP: sigla di Single Nucleotide Polymorphism, ovvero un polimorfismo a livello del singolo nucleotide, causato da una singola mutazione.

Variabilità genetica: è la misura statistica della grandezza nelle differenze tra individui di una popolazione a livello genotipico.



Le pubblicazioni edita da Veneto Agricoltura sono consultabili sul sito www.venetoagricoltura.org, all'interno del menù **Formazione Convegnistica Editoria/Catalogo editoriale**. È possibile inoltre scaricare il catalogo editoriale completo e ordinare le pubblicazioni in formato cartaceo secondo le modalità indicate sul sito.

In particolare, sullo stesso argomento, si segnala:



L'allevamento ovino nella montagna veneta: tradizione e innovazione.

A cura di E. Pastore, 2005. (ristampa)



Le razze ovine autoctone del Veneto.

E. Pastore, 2005. (ristampa)

Il **Centro di Conservazione delle razze ovine venete** presso l'Azienda pilota e dimostrativa per la montagna di Villiago (Sedico, Belluno) è visitabile su richiesta contattando il responsabile al numero di telefono 0437-83635 oppure inviando una mail a ricerca@venetoagricoltura.org.

Azienda pilota e dimostrativa Villiago

loc. Villiago - 32036 Sedico (BL)
tel. 0437.83635 - tel. e fax 0437.838068
e-mail: villiago@venetoagricoltura.org



L'azienda pilota e dimostrativa Villiago si trova a circa 380 m s.l.m. e prende il nome dall'omonima frazione del Comune di Sedico. L'azienda si estende sulla sponda destra del fiume Piave, al centro della Val Belluna, caratterizzata da un ambiente pedoclimatico tipico del fondovalle.

COME RAGGIUNGERE L'AZIENDA

L'azienda pilota e dimostrativa "Villiago" è raggiungibile in automobile dall'autostrada A27 (ultima uscita Belluno), seguendo le indicazioni per Belluno e percorrendo poi verso sud la S.S. 50 in direzione Feltre fino a Sedico dove al Km 18 si gira a sinistra per la Frazione Villiago a circa 2 km.

