

Analisi dei polimorfismi del gene della proteina prionica (*PRNP*) e suscettibilità alla Scrapie delle razze ovine autoctone del nord-est d'Italia



FULVIO BORDIN^{1§*}, LAURA ZULIAN^{1§}, ANNA GRANATO¹, MAURO CALDON¹, ROSA COLAMONICO¹, FRANCO MUTINELLI¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, viale dell'Università 10, 35020, Legnaro (PD), Italy

§ Bordin Fulvio e Zulian Laura have contributed equally.

SUMMARY

Prion protein (*PRNP*) gene polymorphisms are responsible for susceptibility to Scrapie, a transmissible spongiform encephalopathy affecting sheep and goats. As a result, different genotypes were defined based on the combination of polymorphic codons and their classification into risk groups of susceptibility (R1-R5) was proposed to plan the use of animals for reproductive purposes. Breeding programmes aimed at increasing the frequency of the ARR resistant allele in sheep population and to progressively eradicate *PRNP* susceptible alleles. In this study the relative frequency of *PRNP* haplotypes and genotypes were investigated in twelve local sheep breeds, some of them endangered, from three different Italian geographical areas: Alpagota, Brogna, Foza and Lamon from Veneto region, Carsolina and Plezzana from Friuli Venezia Giulia region, and Tiroler Steinschaf, Juraschaf, Tiroler Bergschaf, Schnalser Bergschaf, Schwarz-braunes Bergschaf and Villnoesser Brillenschaf from the Autonomous Province of Bolzano. All six known *PRNP* gene alleles were observed in the total sheep population analyzed and most of the animals carried genotypes with moderate to very high susceptibility to classical Scrapie. The predominant allele in all breeds was ARQ, with frequencies over 60% in some breeds (Foza, 63%, Alpagota, 63.9%, Tiroler Steinschaf, 68.4%). The ARR and VRQ alleles showed variable frequencies depending on the sheep breed with mean values of 27% and 6% respectively. The worst situation was observed in the Lamon breed with about 37.5% of the analysed animals carrying the VRQ risk allele, followed by Villnoesser Brillenschaf and Schnalser Bergschaf breeds with approximately 18% and 14.2% of the animals assigned to the high risk classes respectively. The different frequencies of the susceptible VRQ allele may depend both on the geographical isolation and the reproductive practices of the breeders. In addition, the presence of the ARK allele was demonstrated in eight breeds analysed, with a particularly significant frequency in the Foza and Tiroler Bergschaf breeds (6.8% and 5.7% respectively) compared to what is reported in literature. This study highlights the importance of *PRNP* gene genotyping of different sheep breeds in order to evaluate, guide and improve the organization of possible selection strategies that could lead to an improvement in resistance to Scrapie while preserving the genetic and cultural heritage of these autochthonous sheep populations.

KEY WORDS

Alleles; autochthonous breed; genotyping; Scrapie; sheep.

INTRODUZIONE

La Scrapie è una malattia infettiva degli ovini e dei caprini, appartenente al gruppo delle encefalopatie spongiformi trasmissibili, o malattie da prioni. La suscettibilità alla Scrapie è fortemente influenzata dai genotipi del gene codificante la proteina prionica (*PRNP*). Studi eseguiti su razze ovine presenti in Europa hanno permesso di rilevare la presenza di numerosi polimorfismi, ma solo quelli che interessano i codoni relativi agli aminoacidi in posizione 136, 154 e 171 hanno un chiaro effetto sulla suscettibilità alla Scrapie. Queste tre triplette nucleotidiche polimorfe codificano per sette alleli: A₁₃₆R₁₅₄Q₁₇₁ (ARQ), ARR, AHQ, ARH, ARK, VRQ, TRQ. L'allele VRQ è, tra gli alleli, quello associato ad una maggiore suscettibilità alla Scra-

pie, seguito da ARQ, mentre l'allele ARR conferisce resistenza alla malattia. L'allele AHQ è per lo più associato alla resistenza con dominanza incompleta, mentre il ruolo dell'allele ARH è ancora poco chiaro: in omozigosi è considerato a basso rischio, mentre in eterozigosi sembra essere "neutrale", lasciando prevalere l'azione dell'allele a cui si trova associato. Per gli alleli ARK e TRQ non sono disponibili dati per stabilire il loro ruolo nella suscettibilità/resistenza alla Scrapie in quanto il primo è poco frequente mentre il secondo è molto raro^{1,2,3}.

L'estensione delle analisi genetiche alle popolazioni ovine in tutta Europa e il miglioramento delle capacità diagnostiche dimostrano che la classificazione di rischio dei genotipi e degli alleli può variare anche in relazione al ceppo di agente infettante, alla presenza di polimorfismi in codoni differenti da quelli considerati per la Scrapie classica e alla razza ovina considerata. In Italia il Piano Nazionale di Selezione Genetica (PNSG) degli ovini per la prevenzione della Scrapie classica è regolato dal Decreto del Ministero della Salute del 25 novembre 2015⁴ e, come descritto nell'Allegato 1 - Parte A del suddetto DM, in-

Corresponding Author:
Fulvio Bordin (FBordin@izsvenezie.it).

tende sollecitare l'utilizzo di riproduttori con genotipo resistente per ridurre la presenza, nelle popolazioni ovine italiane, degli alleli del gene *PRNP* responsabili della suscettibilità alla Scrapie, per contribuire alla creazione di "greggi a basso rischio" e per tutelare la salute umana e animale. Il piano si basa sulla genotipizzazione dei capi maschi da riproduzione con lo scopo di incrementare la frequenza dei caratteri di resistenza genetica alla Scrapie e quindi concorrere alla progressiva diminuzione della frequenza degli alleli di suscettibilità. Tuttavia, l'eventuale utilizzo di un numero limitato di capi nell'ambito dei programmi di selezione potrebbe avere un impatto negativo sulla variabilità genetica e sulle caratteristiche produttive delle razze ovine italiane, soprattutto per razze rare o a rischio di estinzione. Il PNSG nelle Regioni del Veneto, Friuli Venezia Giulia e nella Provincia Autonoma di Bolzano ha come finalità l'incremento della resistenza alla Scrapie classica degli ovini presenti con particolare attenzione alle razze autoctone e al loro patrimonio genetico.

Nella Provincia Autonoma di Bolzano sono presenti sei razze ovine autoctone: Juraschaf, Tiroler Steinschaf, Schnalser Bergschaf, Schwarz-braunes Bergschaf, Villnoesser Brillenschaf e Tiroler Bergschaf. Queste razze sono storicamente legate alle comunità montane dell'Alto Adige e la loro conservazione contribuisce al mantenimento della biodiversità dell'ambiente montano locale e alla valorizzazione del territorio.

La razza Juraschaf (pecora del Giura) è di origine svizzera, ma attualmente è allevata, oltre che in Svizzera, anche in Austria, Germania e Italia. Sono animali ben adattati all'ambiente montano, di taglia media, senza corna, di colore nero e marrone. Sono ovini caratterizzati da un'alta percentuale di nascite multiple, un ottimo istinto materno e un'elevata produzione di latte. La razza Tiroler Steinschaf (pecora tirolese delle rocce) è la razza ovina più antica del Tirolo e oggi è una delle razze locali a rischio di estinzione. Sono ovini fertili, robusti, di media taglia, con lana grigia o bianca, molto resistenti e perfetti per la vita in alta montagna. Attualmente la razza viene allevata per la produzione di carne e di lana. Le razze Schwarz-braunes Bergschaf (pecora di montagna nero-bruna), Tiroler Bergschaf (pecora tirolese di montagna) e Schnalser Bergschaf (pecora di montagna della Val Senales) derivano dall'incrocio della Tiroler Steinschaf con la Bergamasca. Sono razze ovine di taglia media molto diffuse nel Tirolo austriaco e italiano. La prima presenta un vello nero o castano ed è sprovvista di corna, mentre le altre due, hanno una lana completamente bianca e, come la prima, sono sprovviste di corna. Queste razze sono molto resistenti, in grado di adattarsi molto bene al clima rigido di alta montagna e sono perciò considerate razze polivalenti, allevate per la produzione di carne e lana e per la gestione della vegetazione dei pascoli alpini. La Villnoesser Brillenschaf (pecora della Val di Funes) è una razza in via di estinzione originaria della Slovenia, ma allevata anche in alcune zone di Austria, Germania e Italia. Si tratta di animali privi di corna, di taglia media, ben adattati ai pendii ripidi e ai pascoli di montagna. Sono principalmente di colore bianco con macchie nere intorno agli occhi che ricordano gli occhiali da vista, da cui il nome "*Brillenschaf*", ovvero pecora con occhiali. Per migliorare la loro produttività sono stati fatti, nel tempo, incroci con le razze Bergamasca e Padovana, ottenendo animali di ottima qualità sia per la produzione di carne che per la produzione di lana⁵.

Nella regione del Veneto sono quattro le razze ovine autoctone, diffuse principalmente nelle province di Vicenza, Verona

e Belluno: Foza (o Vicentina), Brogna, Lamon e Alpagota. Sono razze storicamente legate alle comunità montane del Veneto e da sempre utilizzate per la produzione di latticini o carne. La razza ovina Foza (o Vicentina) probabilmente originaria dell'altopiano di Asiago, in particolare nel comune di Foza, è costituita da animali di taglia medio-grande con carattere docile e buon istinto materno. È classificata come razza a duplice attitudine per carne e lana. Il tipo di allevamento è sia stanziale che transumante. L'attuale popolazione allevata è assai ridotta e a rischio estinzione e pertanto è importante provvedere alla salvaguardia dei suoi caratteri di rusticità e del patrimonio genetico. La razza Brogna è considerata autoctona della provincia di Verona ed è diffusa principalmente nell'altopiano della Lessinia e nelle valli adiacenti (Val d'Illasi, Val d'Alpone, Valle del Chiampo e Valpolicella). Sono ovini di taglia media, allevati in piccoli greggi stanziali. Tradizionalmente, era considerata una razza a triplice attitudine, ma ora la produzione principale è rappresentata dalla carne di agnello e secondariamente dal latte. La pecora di Lamon è autoctona dell'omonimo comune in provincia di Belluno e di altri comuni della Valbelluna. Utilizzata, in passato, nei greggi di pastorizia transumante, grazie alla sua elevata resistenza e adattabilità nei diversi ambienti montani, oggi, anche se considerata una razza a triplice attitudine, è allevata solo per la produzione di carne. La razza Lamon è in pericolo di estinzione a causa del progressivo abbandono dell'attività transumante come forma di allevamento, che ha portato ad una drastica riduzione del numero di capi e necessita, quindi, di interventi nella gestione della riproduzione e conservazione dei tratti morfologici della razza. La razza Alpagota, infine, è una popolazione ovina autoctona dell'altopiano Alpagoto-Cansiglio, nella parte sud-est della provincia di Belluno, allevata anche nei comuni limitrofi delle province di Belluno e Treviso. Classificata tra le pecore alpine, da cui si distingue per le sue caratteristiche di rusticità e frugalità, è di taglia medio-piccola e attualmente viene allevata principalmente per la produzione di carne. L'allevamento di questa razza è di tipo semi-stanziale con stabulazione invernale, pascolamento nei terreni vicini alle aziende in primavera e autunno e trasferimento in alpeggio, anche in pascoli ad alta quota, nel periodo estivo⁶.

Nella regione Friuli-Venezia-Giulia sono due le principali razze ovine autoctone: Carsolina e Plezzana. La razza Carsolina (o Istriana) è originaria dell'area carsica nord adriatica ed è allevata nelle province di Gorizia, Pordenone, Udine e Trieste; è una razza di taglia media, l'allevamento è per lo più stanziale ed è considerata a duplice attitudine, ossia carne e latte. La valorizzazione delle produzioni locali lattiero-casearie è favorita da Piani di Sviluppo Rurale che mirano a contribuire alla tutela e al recupero delle razze autoctone a rischio del territorio contrastando l'abbandono delle attività agricole montane. La razza Plezzana, internazionalmente conosciuta come Bovec o Bovska, è originaria dell'alta valle dell'Isonzo e deve il suo nome alla cittadina di Plezzo, situata in territorio sloveno. È una pecora di dimensioni ridotte, di colore chiaro o marrone, particolarmente adatta ai pascoli alpini grazie alla sua rusticità e frugalità. La Plezzana è allevata prevalentemente in piccoli nuclei stanziali, con alpeggio nella stagione estiva; è considerata una razza a duplice attitudine (latte e carne), ma viene prevalentemente utilizzata per la produzione di latte per la successiva trasformazione casearia in prodotti di alto valore aggiunto, contribuendo così a determinare una riqualificazione delle microeconomie locali⁶.

Scopo di questo studio è stato quello di caratterizzare dal punto di vista genetico la suscettibilità alla Scrapie classica di alcune razze ovine autoctone della Provincia Autonoma di Bolzano e delle regioni del Veneto e Friuli Venezia Giulia, alcune delle quali considerate a rischio di estinzione, ponendo le basi per la valutazione di possibili strategie di selezione genetica che possano portare ad un miglioramento della resistenza alla Scrapie conservando, al contempo, il patrimonio genetico delle diverse razze.

MATERIALI E METODI

Nell'ambito del PNSG degli ovini, tra ottobre 2016 e febbraio 2021 sono state caratterizzate, dal punto di vista genetico, dodici razze ovine locali presenti in tre diverse aree geografiche: Provincia Autonoma di Bolzano, Veneto e Friuli Venezia Giulia, alcune delle quali a rischio di estinzione.

Animali

Sono stati sottoposti ad analisi 6.164 capi di cui 4.208 arieti e 1.956 pecore di sei razze ovine della Provincia Autonoma di Bolzano; delle 1.956 femmine, 1.099 non rientravano nel PNSG. La popolazione ovina di ciascuna razza autoctona era così composta:

- Juraschaf: 571 capi di cui 554 maschi e 17 femmine;
- Tiroler Steinschaf: 258 capi di cui 224 maschi e 34 femmine;
- Schnalser Bergschaf: 957 capi di cui 455 maschi e 502 femmine;
- Schwarz-braunes Bergschaf: 706 capi di cui 573 maschi e 133 femmine;
- Villnoesser Brillenschaf: 1.860 capi di cui 740 maschi e 1.120 femmine;
- Tiroler Bergschaf: 1.812 capi di cui 1.662 maschi e 150 femmine.

Sono stati sottoposti ad analisi 2.239 capi, di cui 640 arieti e 1.599 pecore, di quattro razze ovine autoctone venete (Foza, Brogna, Alpagota e Lamon) e 358 capi, di cui 170 maschi e 188 femmine, di due razze ovine autoctone friulane (Carsolina e Plezzana).

Per queste sei razze l'analisi prevista dal PNSG ha riguardato 1.965 capi (605 maschi e 1.360 femmine), mentre i rimanenti 274 capi (35 maschi e 239 femmine) non rientravano nel PNSG.

La popolazione ovina delle quattro razze autoctone della regione Veneto era così composta:

- Foza: 96 capi di cui 51 maschi e 45 femmine;
- Brogna: 1.322 capi di cui 323 maschi e 999 femmine;
- Lamon: 283 capi di cui 143 maschi e 140 femmine;
- Alpagota: 538 capi di cui 123 maschi e 415 femmine.

Gli animali delle due razze ovine autoctone della regione Friuli Venezia Giulia erano così suddivisi:

- Carsolina: 343 capi di cui 155 maschi e 188 femmine;
- Plezzana: 15 capi maschi.

Estrazione del DNA

Il sangue intero è stato raccolto in tubi contenenti K3-EDTA come anticoagulante e conservato a -20°C fino all'analisi. In funzione del numero di campioni da analizzare, l'estrazione del DNA è stata effettuata utilizzando o l'High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche), seguendo le istruzioni fornite dal produttore, o il MagMAX CORE Nucleic Acid Purification Kit

(Thermo Fisher Scientific) per l'estrazione automatizzata dell'acido nucleico su strumento King Fisher™ 96 Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific). I campioni di DNA sono stati conservati a -20°C fino all'uso.

Analisi dei polimorfismi ai condoni 136, 154 e 171 del gene PRNP ovino

I polimorfismi del gene *PRNP* ai codoni 136, 154 e 171 sono stati identificati mediante real-time PCR su termociclatore LightCycler 2.0 (Roche), utilizzando il LightMix® PRNP Scrapie Susceptibility Mutation kit (TIB Molbiol) in combinazione con il kit LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probes (Roche), secondo le istruzioni e il profilo termico indicato dal produttore. Le diverse varianti alleliche dei polimorfismi sono state identificate mediante analisi delle temperature di *melting*. Qualora il risultato dell'analisi non fosse interpretabile o ci fossero dubbi sulla sua interpretazione si è proceduto all'amplificazione del DNA e al sequenziamento del prodotto di amplificazione.

Per la reazione di amplificazione sono stati utilizzati i primer PRP-3S 5'-ATG AAG CAT GTG GCA GGA G-3' e PRP-2A 5'-CAG TTT CGG TGA AGT TCT CC-3' in grado amplificare la regione del gene in cui sono presenti i tre codoni di interesse (136, 154 e 171). Il prodotto di amplificazione (280 bp), dopo corsa elettroforetica su gel di acrilamide al 7%, è stato visualizzato mediante colorazione con nitrato d'argento. Per il sequenziamento l'amplicone è stato purificato utilizzando il kit ExoSAP-IT Express PCR Product Cleanup (Applied Biosystems) e l'allestimento della reazione di sequenza è stata effettuata utilizzando il kit BrilliantDye™ Terminator Cycle Sequencing kit (Nimagen). Il prodotto della reazione di sequenza, purificato con il kit CENTRI-SEP 96 Well Plates (Princeton Separations), è stato caricato su sequenziatore ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

La sequenza delle basi nucleotidiche presenti nei tre codoni di interesse (136, 154 e 171) e quindi il relativo amminoacido codificato è stata determinata mediante analisi dell'elettroferogramma ottenuto con il software SeqScape v3.0 (LifeTechnologies).

RISULTATI

Razze ovine della Provincia Autonoma di Bolzano

Dal 2016 ad oggi sono stati genotipizzati 6.164 ovini (4.208 arieti e 1.956 pecore) appartenenti a sei razze autoctone della Provincia Autonoma di Bolzano. Gli alleli e i genotipi rilevati per ciascuna razza e le relative frequenze sono riportati rispettivamente nelle tabelle 1, 2 e 3; inoltre, in base al genotipo, i capi sono stati suddivisi nelle cinque classi di rischio (R1→R5) di suscettibilità alla Scrapie classica⁷. Nella popolazione ovina totale l'allele maggiormente presente è ARQ, che varia dal 42,5% della razza Juraschaf al 68,4% della razza Tiroler Steinschaf. La predominanza dell'ARQ riguarda sia i maschi che le femmine di cinque razze su sei, eccetto la Juraschaf in cui l'allele predominante nelle femmine è ARR (50%), probabilmente dovuto al numero molto ridotto di pecore esaminate (n=17, Tabella 1). L'allele di resistenza ARR nella popolazione totale ha, invece, una frequenza che varia dal 18,4% della razza Tiroler Steinschaf al 31,4% della razza Juraschaf, mentre l'allele VRQ, che conferisce elevata suscettibilità alla Scrapie, varia

Tabella 1 - Alleli del gene *PRNP* e relative frequenze espresse in percentuale rilevate nelle sei razze della Provincia Autonoma di Bolzano, nelle quattro razze della regione del Veneto e nelle due razze della regione Friuli Venezia Giulia.

ALLELE	JURASCHAF			TIROLER STEINSCHAF			SCHNALSER BERGSCHAF			SCHWARZBRAUNES BERGSCHAF			VILNOESSER BRILLENCHAF			TIROLER BERGSCHAF		
	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)
ARR	31,4	30,9	50	18,4	17,4	25	23,4	25,1	21,8	18,8	17,4	24,8	28,6	28,7	28,5	27,2	26,9	30,7
ARQ	42,5	42,6	38,2	68,4	71,4	48,5	54,9	53,6	56	53,9	55,1	48,9	50,5	49,6	51,1	55,2	55,4	52
AHQ	23,8	24,2	11,8	11,4	10,7	16,2	0,3	0,4	0,1	17,2	17,2	17,3	5,4	5,5	5,3	6,3	6,4	5,3
ARK	0,6	0,6		0,2		1,5				3,2	3,6	1,5	0,2	0,5		5,7	5,8	5,3
ARH	0,3	0,3					13,8	12,9	14,7	2,3	2,4	1,9	5,6	6,1	5,3	1,8	1,9	1,7
VRQ	1,4	1,4		1,6	0,4	8,8	7,7	8	7,4	4,7	4,5	5,6	9,7	9,6	9,8	3,8	3,6	5
ALLELE	ALPAGOTA			BROGNA			FOZA			LAMON			CARSOLINA			PLEZZANA		
	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)	TOT (%)	M ♂ (%)	F ♀ (%)
ARR	25,7	26	25,7	27,1	20,7	29,1	26	24,5	27,8	29,3	31,8	26,8	28,3	27,4	29	16,7	16,7	
ARQ	63,9	67,1	63	59	58	59,4	63	59,8	66,7	46,3	44,4	48,2	47,2	50,6	44,4	50	50	
AHQ	5,6	1,6	6,7	2,6	1,4	3	3,6	5,9	1,1	1,2	1,4	1,1	17,8	16,8	18,6	16,7	16,7	
ARK	0,5		0,6	2,4	0,8	2,9	6,8	8,8	4,4									
ARH	0,7	1,2	0,5	2,6	5,9	1,5				3,5	1,7	5,4	5,7	4,5	6,6	13,3	13,3	
VRQ	3,6	4,1	3,5	6,3	13,2	4,1	0,5	1		19,6	20,6	18,6	1	0,6	1,3	3,3	3,3	

dall'1,4% della razza Juraschaf al 9,7% della razza Villnoesser Brillenschaf. Da notare che nella razza Juraschaf tale allele è stato rilevato solo negli arieti e, come per l'allele ARR, anche in questo caso probabilmente è da attribuirsi al ridotto numero di pecore analizzate. Oltre agli altri alleli più comuni, l'allele ARK è presente in tutte le razze, ad eccezione della Schnalser Bergschaf, e la sua frequenza varia tra lo 0,2% delle razze Tiroler Steinschaf e Villnoesser Brillenschaf e il 5,7% della Tiroler Bergschaf (Tabella 1). Nella razza Tiroler Steinschaf non è stata rilevata la presenza dell'allele ARH.

Nella razza Juraschaf, la popolazione totale (maschi e femmine) è composta per il 53,2% da capi appartenenti alle classi di rischio R1 e R2, scarsamente suscettibili alla Scrapie, mentre per il restante 46,8% da capi con un rischio medio alto di sviluppare la malattia. I genotipi predominanti nella razza Juraschaf sono ARR/ARQ (29,1%), ARQ/ARH (19,8%) e ARQ/ARQ (17%), mentre i capi resistenti omozigoti ARR/ARR costituiscono l'8,9% del totale (Tabella 2).

Nella razza Tiroler Steinschaf i capi analizzati appartengono per il 67,1% alle classi di rischio R3→R5 e per il 32,9% alle classi R1 e R2. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (47,3%), ARR/ARQ (24%) e ARQ/AHQ (15,1%), mentre i capi resistenti omozigoti ARR/ARR costituiscono il 3,9% del totale (Tabella 2).

Sia nella razza Juraschaf che Tiroler Steinschaf non sono stati riscontrati capi omozigoti VRQ/VRQ.

La razza Schnalser Bergschaf è composta da capi suscettibili alla Scrapie per il 61,7% (classi di rischio R3→R5) e per il 38,3% da capi scarsamente suscettibili o resistenti (classi di rischio R1 e R2). I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (29,7%), ARR/ARQ (26%) e ARQ/ARH (15,9%). I capi resistenti omozigoti ARR/ARR costituiscono il 5,3% del totale, mentre i capi omozigoti VRQ/VRQ rappresentano l'1,1% (Tabella 2).

Nella razza Schwarz-braunes Bergschaf i capi analizzati si suddividono nelle classi di rischio R3→R5 per il 69,6% della popolazione totale e nelle classi R1 e R2 per il restante 30,4%. I genotipi predominanti in questa razza sono ARQ/ARQ (30,6%), ARR/ARQ (18,4%) e ARQ/AHQ (18%). I capi omozigoti ARR/ARR resistenti costituiscono il 5,4% del totale, mentre non sono presenti ovini omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 2). Le due razze autoctone con il maggior numero di capi analizzati nella Provincia Autonoma di Bolzano sono la Villnoesser Brillenschaf (1.860 ovini) e la Tiroler Bergschaf (1.812 ovini). Nella popolazione ovina Villnoesser Brillenschaf gli animali analizzati appartengono per il 57,7% alle classi di rischio R3→R5 e per il 42,3% alle classi R1 e R2. I genotipi predominanti sono ARQ/ARQ (28,4%) e ARR/ARQ (25,9%). I capi omozigoti ARR/ARR resistenti costituiscono il 9,2% del totale contro l'1,3% di quelli omozigoti VRQ/VRQ. La razza Tiroler Bergschaf invece si suddivide fra il 55,9% nelle classi di rischio R3→R5 e il 44,1% nelle classi R1 e R2. I genotipi predominanti sono ARQ/ARQ (30,8%) e ARR/ARQ (29,2%), mentre i capi omozigoti ARR/ARR resistenti costituiscono l'8,2% del totale. Il genotipo omozigote VRQ/VRQ è stato rilevato solo nei maschi e con una frequenza pari allo 0,5% (Tabella 2).

Razze ovine della regione del Veneto

Nella regione del Veneto dal 2016 ad oggi, sono stati genotipizzati 2.239 capi (640 arieti e 1.599 pecore) appartenenti alle quattro razze autoctone Alpagota, Brogna, Foza e Lamon. Gli alleli e i genotipi rilevati per ciascuna razza e le relative frequenze sono riportati rispettivamente nelle tabelle 1 e 3. Nelle razze Alpagota e Brogna sono stati osservati tutti e sei gli alleli del gene *PRNP*, mentre nei capi appartenenti alle razze Foza e Lamon non è stata riscontrata la presenza, rispettivamente, dell'allele ARH e ARK. In tutte e quattro le razze ovine venete l'allele predominante, sia nei maschi che nelle femmine,

Tabella 2 - Numero di capi con i relativi genotipi PRNP e frequenze (f) espresse in percentuale rilevate nelle sei razze della Provincia Autonoma di Bolzano. I genotipi sono stati suddivisi nelle cinque classi di rischio R1→R5 secondo il National Scrapie Plan for UK⁷: R1, ovini geneticamente resistenti alla Scrapie; R2, ovini geneticamente resistenti alla Scrapie, ma che necessitano di un'attenta selezione quando vengono utilizzati per la riproduzione; R3, ovini geneticamente poco resistenti alla Scrapie; R4, ovini geneticamente suscettibili alla Scrapie e non dovrebbero essere utilizzati per la riproduzione; R5, ovini altamente suscettibili alla Scrapie e non dovrebbero essere utilizzate per la riproduzione.

		JURASCHAF						TIROLER STEINSCHAF						SCHNALSER BERGSCHAF						
CLASSE DI RISCHIO	GENOTIPO	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	
R1	ARR/ARR	51	8,9	47	8,5	4	23,5	10	3,9	8	3,6	2	5,9	51	5,3	31	6,8	20	4	
R2	ARR/ARQ	166	29,1	158	28,5	8	47,1	62	24	52	23,2	10	29,4	249	26	125	27,5	124	24,7	
	ARR/AHQ	84	14,7	83	15	1	5,9	13	5	10	4,5	3	8,8	1	0,1			1	0,2	
	ARR/ARH													65	6,8	27	5,9	38	7,6	
	ARR/ARK	3	0,5	3	0,5															
R3	ARQ/ARQ	97	17	95	17,1	2	11,8	122	47,3	116	51,8	6	17,6	284	29,7	126	27,7	158	31,5	
	ARQ/AHQ	113	19,8	112	20,2	1	5,9	39	15,1	34	15,2	5	14,7	1	0,1	1	0,2			
	ARQ/ARH	2	0,4	2	0,4									152	15,9	68	14,9	84	16,7	
	ARQ/ARK							1	0,4			1	2,9							
	AHQ/AHQ	36	6,3	35	6,3	1	5,9	3	1,2	2	0,9	1	2,9	1	0,1	1	0,2			
	AHQ/ARH													1	0,1	1	0,2			
	AHQ/ARK	1	0,2	1	0,2															
	ARH/ARH														16	1,7	7	1,5	9	1,8
	ARH/ARK	1	0,2	1	0,2															
ARK/ARK	1	0,2	1	0,2																
R4	ARR/VRQ	4	0,7	4	0,7									30	3,1	14	3,1	16	3,2	
R5	ARQ/VRQ	10	1,8	10	1,8			7	2,7	2	0,9	5	14,7	80	8,4	42	9,2	38	7,6	
	AHQ/VRQ	2	0,4	2	0,4			1	0,4			1	2,9							
	ARH/VRQ													15	1,6	7	1,5	8	1,6	
	ARK/VRQ																			
	VRQ/VRQ													11	1,1	5	1,1	6	1,2	
TOTALE		571		554		17		258		224		34		957		455		502		
		SCHWARZ-BRAUNES BERGSCHAF						VILLOESSER BRILLENCHAF						TIROLER BERGSCHAF						
CLASSE DI RISCHIO	GENOTIPO	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	
R1	ARR/ARR	38	5,4	28	4,9	10	7,5	172	9,2	75	10,1	97	8,7	148	8,2	132	7,9	16	10,7	
R2	ARR/ARQ	130	18,4	92	16,1	38	28,6	481	25,9	179	24,2	302	27	530	29,2	485	29,2	45	30	
	ARR/AHQ	33	4,7	28	4,9	5	3,8	53	2,8	22	3	31	2,8	61	3,4	57	3,4	4	2,7	
	ARR/ARH	2	0,3	2	0,3			79	4,2	33	4,5	46	4,1	9	0,5	9	0,5			
	ARR/ARK	11	1,6	11	1,9			2	0,1	2	0,3			51	2,8	45	2,7	6	4,0	
R3	ARQ/ARQ	216	30,6	191	33,3	25	18,8	528	28,4	213	28,8	315	28,1	558	30,8	515	31	43	28,7	
	ARQ/AHQ	127	18	102	17,8	25	18,8	105	5,6	40	5,4	65	5,8	125	6,9	119	7,2	6	4	
	ARQ/ARH	20	2,8	16	2,8	4	3	78	4,2	37	5,0	41	3,7	36	2	32	1,9	4	2,7	
	ARQ/ARK	21	3	18	3,1	3	2,3	3	0,2	2	0,3	1	0,1	124	6,8	116	7	8	5,3	
	AHQ/AHQ	26	3,7	19	3,3	7	5,3	7	0,4	4	0,5	3	0,3	10	0,6	10	0,6			
	AHQ/ARH	7	1	7	1,2			7	0,4	2	0,3	5	0,4	6	0,3	5	0,3	1	0,7	
	AHQ/ARK	7	1	6	1	1	0,8	1	0,1	1	0,1			9	0,5	7	0,4	2	1,3	
	ARH/ARH	1	0,1	1	0,2			8	0,4	2	0,3	6	0,5	3	0,2	3	0,2			
	ARH/ARK													9	0,5	9	0,5			
R4	ARR/VRQ	13	1,8	10	1,7	3	2,3	104	5,6	39	5,3	65	5,8	38	2,1	33	2	5	3,3	
R5	ARQ/VRQ	31	4,4	21	3,7	10	7,5	155	8,3	50	6,8	105	9,4	68	3,8	61	3,7	7	4,7	
	AHQ/VRQ	17	2,4	16	2,8	1	0,8	20	1,1	8	1,1	12	1,1	8	0,4	5	0,3	3	2	
	ARH/VRQ	1	0,1			1	0,8	30	1,6	15	2	15	1,3	1	0,1	1	0,1			
	ARK/VRQ	4	0,6	4	0,7			2	0,1	2	0,3			5	0,3	5	0,3			
	VRQ/VRQ							25	1,3	14	1,9	11	1	8	0,4	8	0,5			
TOTALE		706		573		133		1860		740		1120		1812		1662		150		

Tabella 3 - Numero di capi con i relativi genotipi PRNP e frequenze (f) espresse in percentuale per le quattro razze della regione del Veneto e per le due razze della regione Friuli Venezia Giulia. I genotipi sono stati suddivisi nelle cinque classi di rischio R1 → R5 secondo il National Scrapie Plan for UK⁷.

		ALPAGOTA						BROGNA						FOZA					
CLASSE DI RISCHIO	GENOTIPO	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)
R1	ARR/ARR	33	6,1	8	6,5	25	6	109	8,2	26	8	83	8,3	6	6,3	4	7,8	2	4,4
R2	ARR/ARQ	180	33,5	40	32,5	140	33,7	412	31,2	53	16,4	359	35,9	32	33,3	13	25,5	19	42,2
	ARR/AHQ	16	3	2	1,6	14	3,4	24	1,8	3	0,9	21	2,1	1	1	1	2		
	ARR/ARH	2	0,4	1	0,8	1	0,2	9	0,7	2	0,6	7	0,7						
	ARR/ARK	3	0,6			3	0,7	14	1,1			14	1,4	4	4,2	2	3,9	2	4,4
R3	ARQ/ARQ	221	41,1	59	48	162	39	470	35,6	123	38,1	347	34,7	37	38,5	18	35,3	19	42,2
	ARQ/AHQ	33	6,1	1	0,8	32	7,7	40	3	5	1,5	35	3,5	6	6,3	5	9,8	1	2,2
	ARQ/ARH	5	0,9	2	1,6	3	0,7	43	3,3	26	8	17	1,7						
	ARQ/ARK	2	0,4			2	0,5	36	2,7	3	0,9	33	3,3	9	9,4	7	13,7	2	4,4
	AHQ/AHQ	4	0,7			4	1												
	AHQ/ARH							1	0,1			1	0,1						
	AHQ/ARK							3	0,2	1	0,3	2	0,2						
	ARH/ARH							2	0,2	2	0,6								
	ARH/ARK							3	0,2			3	0,3						
	ARK/ARK							2	0,2			2	0,2						
R4	ARR/VRQ	10	1,9	5	4,1	5	1,2	39	3	24	7,4	15	1,5	1	1	1	2		
R5	ARQ/VRQ	26	4,8	4	3,3	22	5,3	90	6,8	42	13	48	4,8						
	AHQ/VRQ	3	0,6	1	0,8	2	0,5	1	0,1			1	0,1						
	ARH/VRQ							8	0,6	6	1,9	2	0,2						
	ARK/VRQ							3	0,2	1	0,3	2	0,2						
	VRQ/VRQ							13	1	6	1,9	7	0,7						
TOTALE		538		123		415		1322		323		999		96		51		45	
		LAMON						CARSOLINA						PLEZZANA					
CLASSE DI RISCHIO	GENOTIPO	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)	TOT	f (%)	M ♂	f (%)	F ♀	f (%)
R1	ARR/ARR	27	9,5	21	14,7	6	4,3	36	10,5	18	11,6	18	9,6	1	6,7	1	6,7		
R2	ARR/ARQ	61	21,6	26	18,2	35	25	80	23,3	40	25,8	40	21,3	3	20	3	20		
	ARR/AHQ	3	1,1	2	1,4	1	0,7	27	7,9	8	5,2	19	10,1						
	ARR/ARH	8	2,8	2	1,4	6	4,3	11	3,2			11	5,9						
	ARR/ARK																		
R3	ARQ/ARQ	68	24	34	23,8	34	24,3	82	23,9	41	26,5	41	21,8	4	26,7	4	26,7		
	ARQ/AHQ							63	18,4	26	16,8	37	19,7	1	6,7	1	6,7		
	ARQ/ARH	9	3,2	2	1,4	7	5	14	4,1	8	5,2	6	3,2	2	13,3	2	13,3		
	ARQ/ARK																		
	AHQ/AHQ							11	3,2	7	4,5	4	2,1	1	6,7	1	6,7		
	AHQ/ARH	1	0,4			1	0,7	10	2,9	4	2,6	6	3,2	2	13,3	2	13,3		
	AHQ/ARK																		
	ARH/ARH							2	0,6	1	0,6	1	0,5						
	ARH/ARK																		
R4	ARR/VRQ	40	14,1	19	13,3	21	15	4	1,2	1	0,6	3	1,6						
R5	ARQ/VRQ	56	19,8	31	11	25	8,8	3	0,9	1	0,6	2	1,1	1	6,7	1	6,7		
	AHQ/VRQ	3	1,1	2	1,4	1	0,7												
	ARH/VRQ	2	0,7	1	0,7	1	0,7												
	ARK/VRQ																		
	VRQ/VRQ	5	1,8	3	2,1	2	1,4												
TOTALE		283		143		140		343		155		188		15		15		/	

è ARQ, con una frequenza che varia dal 46,3% della razza Lamon al 63,9% dell'Alpagota. L'allele di resistenza ARR mostra una frequenza compresa tra il 25,7% della razza Alpagota e il 29,3% della Lamon, mentre quella dell'allele VRQ varia dallo 0,5% della razza Foza al 19,6% della Lamon. La frequenza dell'allele ARK, in generale poco comune nelle popolazioni ovine, è compresa tra lo 0,5% della razza Alpagota e il 6,8% della Foza (Tabella 1).

Nella razza Alpagota la popolazione totale (maschi e femmine) è composta per il 56,5% da capi appartenenti alle classi di rischio R3→R5, mentre il restante 43,5% appartiene alle classi R1 e R2, scarsamente suscettibili alla Scrapie. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (41,1%) e ARR/ARQ (33,5%). I capi resistenti omozigoti ARR/ARR rappresentano il 6,1% del totale, mentre non sono stati rilevati omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 3).

Nella razza Brogna i capi analizzati appartengono alle classi di rischio R3→R5 per il 57% e per il restante 43% alle classi R1 e R2. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (35,6%) e ARR/ARQ (31,2%), mentre i capi omozigoti ARR/ARR resistenti costituiscono l'8,2% del totale. Solo l'1% della popolazione è costituito da capi omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 3).

La razza Foza è composta da capi suscettibili alla Scrapie per il 55,2% (classi di rischio R3→R5) e per il 44,8% da capi scarsamente suscettibili o resistenti (classi R1 e R2). I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (38,5%), ARR/ARQ (33,3%) e ARQ/ARK (9,4%). I capi omozigoti ARR/ARR resistenti costituiscono il 6,3% del totale, mentre non sono stati riscontrati omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 3).

La razza Lamon è suddivisa per il 65% nelle classi di rischio R3→R5 e per il 35% nelle classi R1 e R2. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (24%), ARR/ARQ (21,6%) e ARQ/VRQ (19,8%). I capi omozigoti ARR/ARR costituiscono il 9,5% del totale mentre quelli omozigoti VRQ/VRQ l'1,8% (Tabella 3).

Razze ovine della regione Friuli Venezia Giulia

Delle razze autoctone Carsolina e Plezzana della regione Friuli Venezia Giulia sono stati genotipizzati 358 capi (170 arieti e 188 pecore). Gli alleli e i genotipi rilevati per ciascuna razza e le relative frequenze sono riportati rispettivamente nelle tabelle 1 e 3.

Nelle due razze sono stati osservati tutti gli alleli del gene *PRNP* ad esclusione dell'allele ARK. ARQ è l'allele predominante, con una frequenza del 47,2% nella Carsolina e del 50% nella Plezzana, mentre l'allele ARR, che conferisce resistenza alla Scrapie, è presente nel 28,3% di capi della razza Carsolina e nel 16,7% di quelli della razza Plezzana. La frequenza dell'allele VRQ è dell'1% e del 3,3% rispettivamente nella razza Carsolina e nella Plezzana (Tabella 1).

Nella razza Carsolina la popolazione totale (maschi e femmine) è composta per il 55,1% da capi appartenenti alle classi di rischio R3→R5, mentre per il restante 44,9% appartenenti alle classi R1 e R2. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (23,9%), ARR/ARQ (23,3%), e ARQ/AHQ (18,4%). I capi resistenti omozigoti ARR/ARR costituiscono il 10,5% del totale, mentre non sono stati riscontrati capi omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 3).

Per la razza Plezzana sono stati genotipizzati solo 15 arieti. Nonostante il numero ridotto di campioni è stato tuttavia possi-

bile osservare otto diversi genotipi che hanno portato alla suddivisione dei capi nelle classi di rischio R3→R5 per 73,3% e per il restante 26,7% nelle classi R1 e R2. I genotipi predominanti nella razza sono ARQ/ARQ (26,7%), ARR/ARQ (20,0%), ARQ/ARH (13,3%) e AHQ/ARH (13,3%). È stato identificato un solo individuo resistente omozigote ARR/ARR, mentre non sono stati rilevati capi omozigoti VRQ/VRQ (Tabella 3).

DISCUSSIONE

In questo studio sono state analizzate le frequenze alleliche di alcune razze ovine autoctone presenti nella Provincia Autonoma di Bolzano, nella regione del Veneto e nella regione Friuli Venezia Giulia.

Nella popolazione ovina oggetto di studio sono stati osservati tutti e sei gli alleli noti del gene *PRNP* e la maggior parte degli animali rientra nelle classi di rischio R3→R5 con suscettibilità alla Scrapie classica da moderata a molto alta. L'allele predominante in tutte le razze è ARQ, con frequenze superiori al 60% nelle razze Foza (63%), Alpagota (63,9%) e Tiroler Steinschaf (68,4%). In quest'ultima, l'elevata frequenza dell'allele ARQ conferma quanto già rilevato da Sipos *et al.*¹⁰ nello studio del genotipo del gene *PRNP* di alcune razze ovine austriache. Gli alleli ARR e VRQ mostrano frequenze variabili a seconda della razza ovina, con un valore medio sul totale della popolazione del 25% e del 5,3% rispettivamente. Le frequenze relativamente elevate dell'allele ARR (> 20%) in quasi tutte le razze oggetto dello studio confermano ciò che è stato descritto, in particolare per le razze della Provincia Autonoma di Bolzano, da Sipos *et al.*¹⁰ nelle razze ovine austriache e da Cubric Curik *et al.*¹¹ nelle pecore istriane. Questo dato è piuttosto rilevante perché, in relazione al PNSG in atto, la presenza dell'allele ARR fornisce l'opportunità di aumentare la resistenza alla Scrapie classica in queste razze. Nonostante la significativa presenza di genotipi resistenti e semi-resistenti (ARR/-) vi sono numerosi capi che presentano alleli di suscettibilità alla Scrapie da moderata ad alta. Tra tutte le razze, la Lamon presenta la situazione peggiore in questo senso, in quanto la frequenza dell'allele VRQ è elevata (19,8%) e circa il 37,5% degli animali appartiene alle classi di rischio R4 e R5. Ciò significa che questi capi non dovrebbero essere utilizzati come riproduttori secondo il Regolamento della Commissione (EU) No 630/2013 del 28 giugno 2013¹². A tal proposito, nonostante nella medesima razza la frequenza dell'allele VRQ si sia ridotta rispetto a quanto riportato da Granato *et al.*⁹ nel 2013 e il piano di selezione per la resistenza alla Scrapie sia in vigore da almeno cinque anni, in questi ovini permangono condizioni di elevato rischio di erosione genetica in relazione al limitato numero di capi allevati, allevamenti ed arieti utilizzati.

La frequenza dell'allele VRQ osservata nella razza Lamon è paragonabile a quanto rilevato da Lühken *et al.*¹³ nella razza ovina inglese Exmoor Horn e greca Anogeiano (frequenza VRQ prossima al 18% e 16% rispettivamente), e da Townsend *et al.*¹⁴ in alcune rare razze ovine inglesi (Galway e White Face Dartmoor) tra cui la razza ovina Boreray, in cui la frequenza dell'allele VRQ è del 28,4%. Tuttavia, mentre gli autori di quest'ultimo studio hanno suggerito che questo allele si sarebbe involontariamente mantenuto come sottoprodotto degli schemi di selezione utilizzati dagli allevatori, per la razza Lamon è più probabile che l'alta frequenza dell'allele VRQ sia il risultato

della drastica riduzione dei capi negli ultimi anni o di un effetto fondatore in seguito ad un prolungato isolamento⁹.

Anche le razze altoatesine Villnoesser Brillenschaf e Schnalser Bergschaf presentano circa il 18% e il 14,2% rispettivamente dei capi assegnati alle classi di rischio R4 e R5, ma in questo caso le diverse frequenze dell'allele VRQ rilevato nelle razze presenti nella stessa area possono dipendere sia dall'isolamento geografico, che ne ha diminuito lo scambio genetico, sia dalle pratiche riproduttive attuate dagli allevatori⁸.

Interessante è stato inoltre rilevare la presenza dell'allele ARK in otto delle razze oggetto di questo studio, con una frequenza particolarmente significativa nella Foza e nella Tiroler Bergschaf (6,8% e 5,7% rispettivamente). Lühken *et al.*¹³ avevano già ipotizzato che l'allele ARK potesse essere un tratto distintivo di alcune razze alpine, come nel caso delle pecore Bergamasca e Biellese, anche se è stato trovato in razze non prettamente alpine, ma in tutti i casi con una frequenza inferiore all'1%^{2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21}. Anche in questo caso, si può supporre che la frequenza relativamente elevata dell'allele ARK sia dovuta alle dimensioni ridotte della popolazione ovina analizzata (ad esempio la razza Foza) o all'isolamento geografico degli allevamenti di montagna (ad esempio la razza Tiroler Bergschaf).

CONCLUSIONI

Il presente studio ha evidenziato l'importanza della genotipizzazione del gene *PRNP* di alcune razze ovine autoctone dell'Alto Adige, del Veneto e del Friuli Venezia Giulia, al fine di definire il grado di suscettibilità alla Scrapie classica. Un'attenzione particolare è rivolta alla conservazione di queste popolazioni ovine autoctone ed è dovuta al fatto che, essendo già a rischio di estinzione, la salvaguardia del patrimonio zootecnico e culturale potrebbe essere messa in pericolo se entrassero in contatto con l'agente della Scrapie. I risultati ottenuti dalle analisi hanno rivelato alcune caratteristiche che possono aiutare ad indirizzare e migliorare l'organizzazione del piano di conservazione e programmare quindi gli accoppiamenti degli animali con la realizzazione di gruppi di monta. A tal proposito infatti, oltre a genotipizzare gli arieti riproduttori, si è provveduto a determinare il grado di suscettibilità alla Scrapie anche di numerose pecore di alcune delle razze considerate. Inoltre, l'analisi del genotipo ha evidenziato caratteristiche genetiche distintive che confermano o aggiornano le informazioni già presenti in letteratura, sottolineando l'importanza di preservare le risorse genetiche degli animali allevati non solo per ragioni culturali o etiche, ma anche scientifiche.

In conclusione, possiamo affermare che i programmi di allevamento per controllare la suscettibilità alla Scrapie classica devono basarsi su un'adeguata strategia di selezione oltre che su un'attenta gestione degli accoppiamenti per le diverse razze in esame, al fine di aumentare la frequenza dell'allele ARR riducendo quella degli altri alleli sensibili, *in primis* VRQ. Per la conservazione della razza e soprattutto nel caso di una razza rara o in via di estinzione è quindi importante trovare un giusto compromesso tra l'utilizzo di soli arieti delle classi di rischio R1 e R2 (resistenti), con conseguente drastica riduzione del numero di arieti disponibili e un prolungato utilizzo degli stessi, e l'eliminazione degli arieti più suscettibili in quanto questo comporterebbe una grave perdita di variabilità genetica e una riduzione delle dimensioni delle popolazioni ovine, mettendone così a rischio la sopravvivenza futura.

Bibliografia

- Acin C., Martin-Burriel I., Goldmann W., Lyahyai J., Monzon, M., Bolea R., Zaragoza P. (2004). Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected Spanish sheep. *J Gen Virol*, 85: 2103-2110. doi: 10.1099/vir.0.80047-0
- Billinis C., Psychas V., Leontides L., Spyrou V., Argyroudou S., Vlemmas I., Papadopoulos O. (2004). Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected sheep in Greece. *J Gen Virol*, 85: 547-554. doi: 10.1099/vir.0.19520-0
- Detwiler L. A., Baylis M. (2003). The epidemiology of scrapie. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 22: 121-143.
- Italian Ministry of Health (2015). Misure di prevenzione su base genetica per l'eradicazione della scrapie ovina classica, finalizzate all'incremento dell'allele di resistenza della proteina prionica (ARR) nell'intero patrimonio ovino nazionale. Retrieved from https://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.data_PubblicazioneGazzetta=2016-01-27&atto.codiceRedazionale=16A00566&elenco30giorni=false.
- Bigi D., Zanon A. (2020). Atlante delle razze autoctone. Bovini, Equini, Ovicapri, Suini allevati in Italia (2nd ed., pp. 483, Bologna: Edagricole-New Business Media.
- Registro Genealogico giovane bestiame. Registro Anagrafico delle popolazioni Ovi-Caprino autoctone a limitata diffusione. Associazione nazionale pastorizia. Retrieved from www.assonapa.com
- Dawson M., Del Rio Vilas V. (2008). Control of classical scrapie in Great Britain. *In Practice*, 30: 330-333. <https://doi.org/10.1136/inpract.30.6.330>
- Bordin F., Dalvit C., Caldron M., Zulian L., Colamonico R., Trincanato S., Mock B., Reale S., Mutinelli F., Granato A. (2020). Genetic variability following selection for scrapie resistance in six autochthonous sheep breeds in the province of Bolzano (northern Italy). *J Anim Breed Genet*, 137: 395-406. doi: 10.1111/jbg.12478
- Granato A., Dalvit C., Caldron M., Colamonico R., Barberio A., Mutinelli F. (2013). PRNP gene polymorphism in native Italian sheep breeds undergoing in situ conservation. *Small Ruminant Res*, 113: 323-328. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.03.009>
- Sipos W., Kraus M., Schmoll F., Achmann R., Baumgartner W. (2002). PrP genotyping of Austrian sheep breeds. *J Vet Med Sci*, 49: 415-418. doi: 10.1046/j.1439-0442.2002.00472.x.
- Cubicurik V., Feligini M., Ferencakovic M., Dzidic A., Salajpal K., Ambriovic-Ristov A., Curik I. (2010). Sequence polymorphism of PrP exon 3 gene in Istrian and Crossbred sheep. *Ital J Anim Sci*, 8: 86-88.
- Commission Regulation (EU) No 630/2013 of 28 June 2013 amending the Annexes to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. *OJ, L* 179: 60-83. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/GA/TXT/?uri=CELEX:32013R0630>
- Lühken G., Lipsky S., Peter C., Erhardt G. (2008). Prion protein polymorphisms in autochthonous European sheep breeds in respect to scrapie eradication in affected flocks. *Small Ruminant Res*, 75: 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.07.010>
- Townsend S.J., Warner R., Dawson M. (2005). PrP genotypes of rare breeds of sheep in Great Britain. *Vet Rec*, 156: 131-134. doi: 10.1136/vr.156.5.131.
- Gombojav A., Ishiguro N., Horiuchi M., Serjmyadag D., Byambaa B., Shinagawa M. (2003). Amino acid polymorphisms of PrP gene in Mongolian sheep. *J Vet Sci*, 65: 75-81.
- Lan Z., Wang Z.L., Liu Y., Zhang X. (2006). Prion protein gene (PRNP) polymorphisms in Xinjiang local sheep breeds in China. *Arch Virol*, 151: 2095-2101. <https://doi.org/10.1292/jvms.65.75>
- Ekateriniadou L.V., Panagiotidis C.H., Terzis A., Ploumi K., Triantafyllidis A., Deligiannidis P., Triantafyllidis K., Sklavadiadis T. (2007). Sheep genotyping for PrP gene polymorphisms in rare Greek breeds. *Vet Rec*, 160: 194-195. <https://doi.org/10.1136/vr.160.6.194>
- Gootwine E., Abdulkhalig A., Jawasreh K., Valle Zárate A. (2008). Screening for allele frequency at the PrP locus in (PRNP) Awassi and Assaf populations in Israel, the Palestinian Authority and Jordan. *Small Ruminant Res*, 77: 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.02.008>
- Pongolini S., Bergamini F., Iori A., Migliore S., Corradi A., Bassi S. (2009). Prion protein genotypes of Italian sheep breeds with lysine-171 and phenylalanine-141 detection. *Vet Microbiol*, 137: 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.012>
- Alvarez L., Gutierrez-Gil B., Uzun M., San Primitivo F., Arranz J.J. (2011). Genetic variability in the prion protein gene in five indigenous Turkish sheep breeds. *Small Ruminant Res*, 99: 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.043>
- Oner Y., Yesilbag K., Tuncel E., Elmali C. (2011). Prion protein gene (PrP) polymorphisms in healthy sheep in Turkey. *Animals*, 11: 1728-1733. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000942>