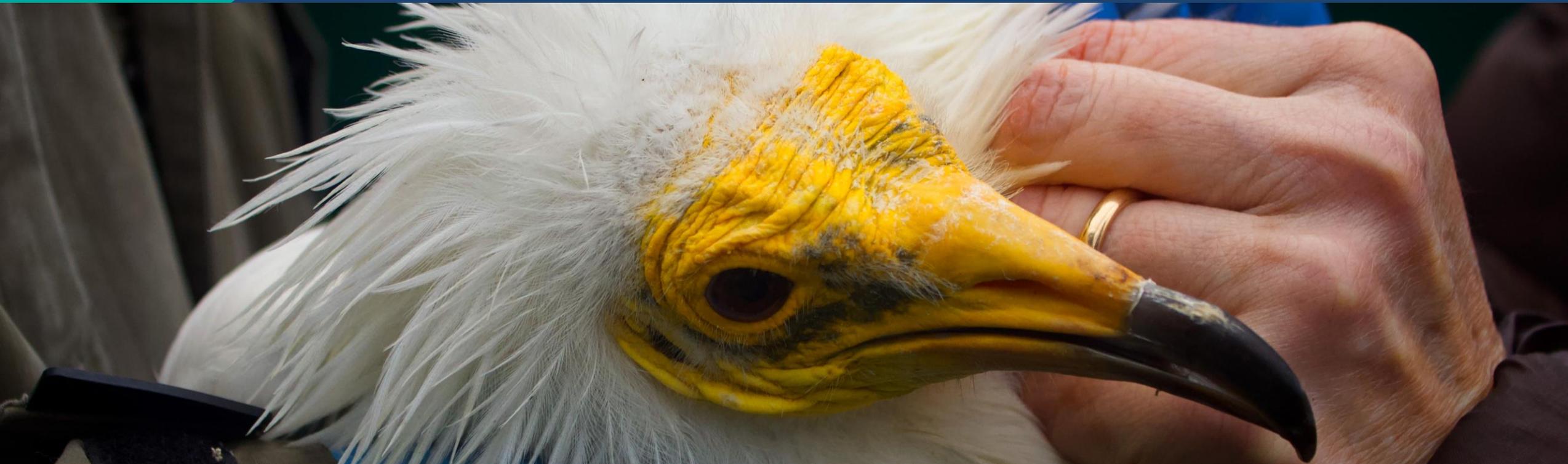




La caratterizzazione genetica: uno strumento per la conservazione della specie

Edoardo Velli, Angelica Lembo, Guido Ceccolini, Anna Cenerini, Nadia Mucci, Alessandro Andreotti



Progetto LIFE Egyptian Vulture
Convegno finale – Matera 19-21 Settembre 2023

PERCHÉ LA GENETICA SUL CAPOVACCAIO?

- ✓ PIANI DI CONSERVAZIONE E REINTRODUZIONE
- ✓ VARIABILITÀ – POTENZIALE EVOLUTIVO
- ✓ INBREEDING
- ✓ MONITORAGGIO
- ✓ SUPPORTO INDAGINI BRACCONAGGIO
- ✓ FILOGENESI E STRUTTURA DI POPOLAZIONE
- ✓ STUDI DI GENOMICA ADATTATIVA (MIGRAZIONI)



PERCHÉ LA GENETICA SUL CAPOVACCAIO?

- ✓ PIANI DI CONSERVAZIONE E REINTRODUZIONE
- ✓ VARIABILITÀ – POTENZIALE EVOLUTIVO
- ✓ INBREEDING
- ✓ MONITORAGGIO
- ✓ SUPPORTO INDAGINI BRACCONAGGIO
- ✓ FILOGENESI E STRUTTURA DI POPOLAZIONE
- ✓ STUDI DI GENOMICA ADATTATIVA (MIGRAZIONI)



GLI STRUMENTI DELLA GENETICA - DA DOVE PARTIRE?

I CAMPIONI BIOLOGICI:

Invasivi

Sangue
Penne
Tessuto muscolare

Alta qualità
Maggior disturbo

54 campioni
39 CERM - 15 Rilasciati

Non invasivi

Borre
Penne da muta
Feci

Bassa qualità
Minor disturbo

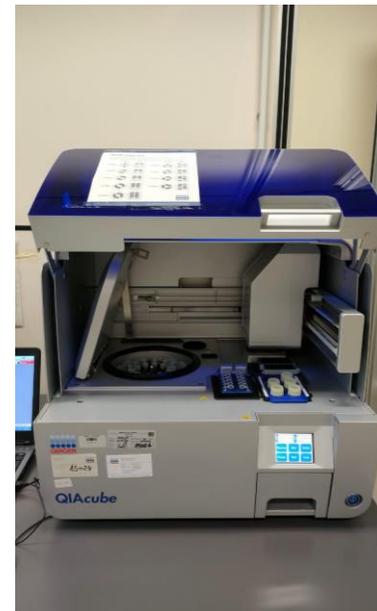
15 campioni
da aree nidificazione



A. Lembo

GLI STRUMENTI DELLA GENETICA – COME OTTENERE IL DNA?

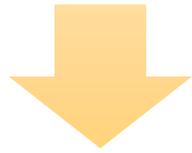
A. Lembo



ESTRAZIONE DEL DNA

GLI STRUMENTI DELLA GENETICA – COSA ANALIZZARE?

MARCATORI MOLECOLARI



Neutrali



- ✓ Variabilità
- ✓ Struttura
- ✓ Riconoscimento
- ✓ Parentele
- ✓ Etc..

18 loci
microsatellite

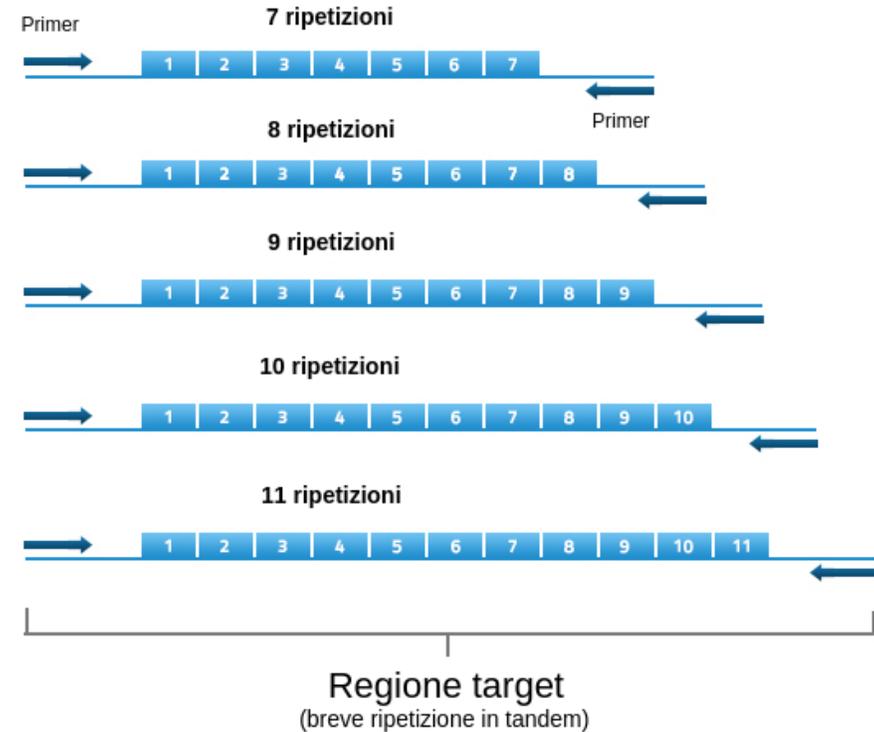


Codificanti



- ✓ Adattamenti
- ✓ Forze evolutive
- ✓ Associazioni Geno-Feno
- ✓ Etc..

4 loci
geni *clock*
migrazione



Unità ripetitiva a 2 nucleotidi: (CA) (CA) (CA)...

Unità ripetitiva a 3 nucleotidi: (GCC) (GCC) (GCC)...

Unità ripetitiva a 4 nucleotidi: (AATG) (AATG) (AATG)...

Unità ripetitiva a 5 nucleotidi: (AGAAA) (AGAAA) (AGAAA)...

GLI STRUMENTI DELLA GENETICA – COME ANALIZZARE?

AMPLIFICAZIONE DEL DNA *TARGET*



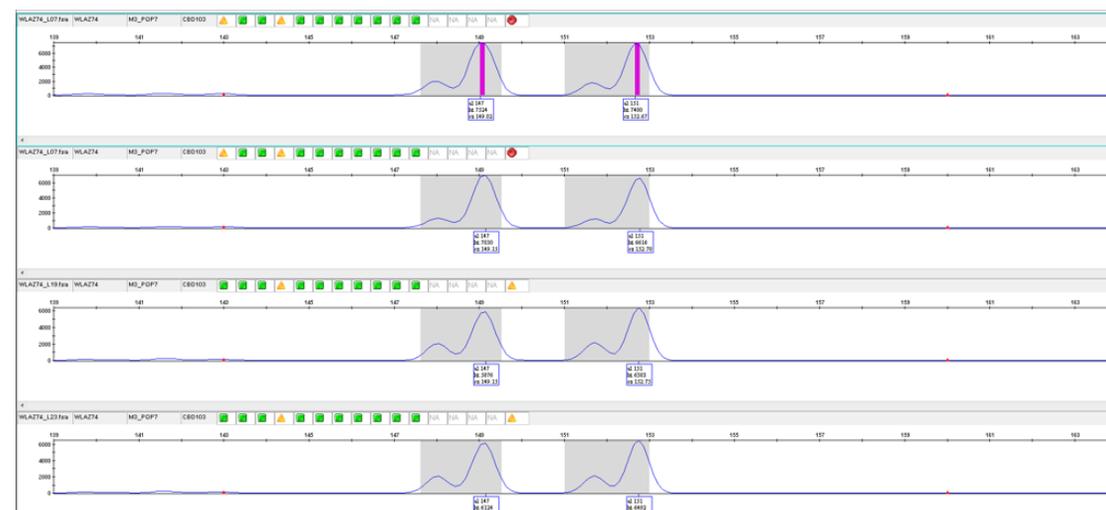
ELETTROFORESI DEI FRAMMENTI



ANALISI DEGLI *OUTPUT*



RICOSTRUZIONE DEI PROFILI GENETICI
INDIVIDUALI



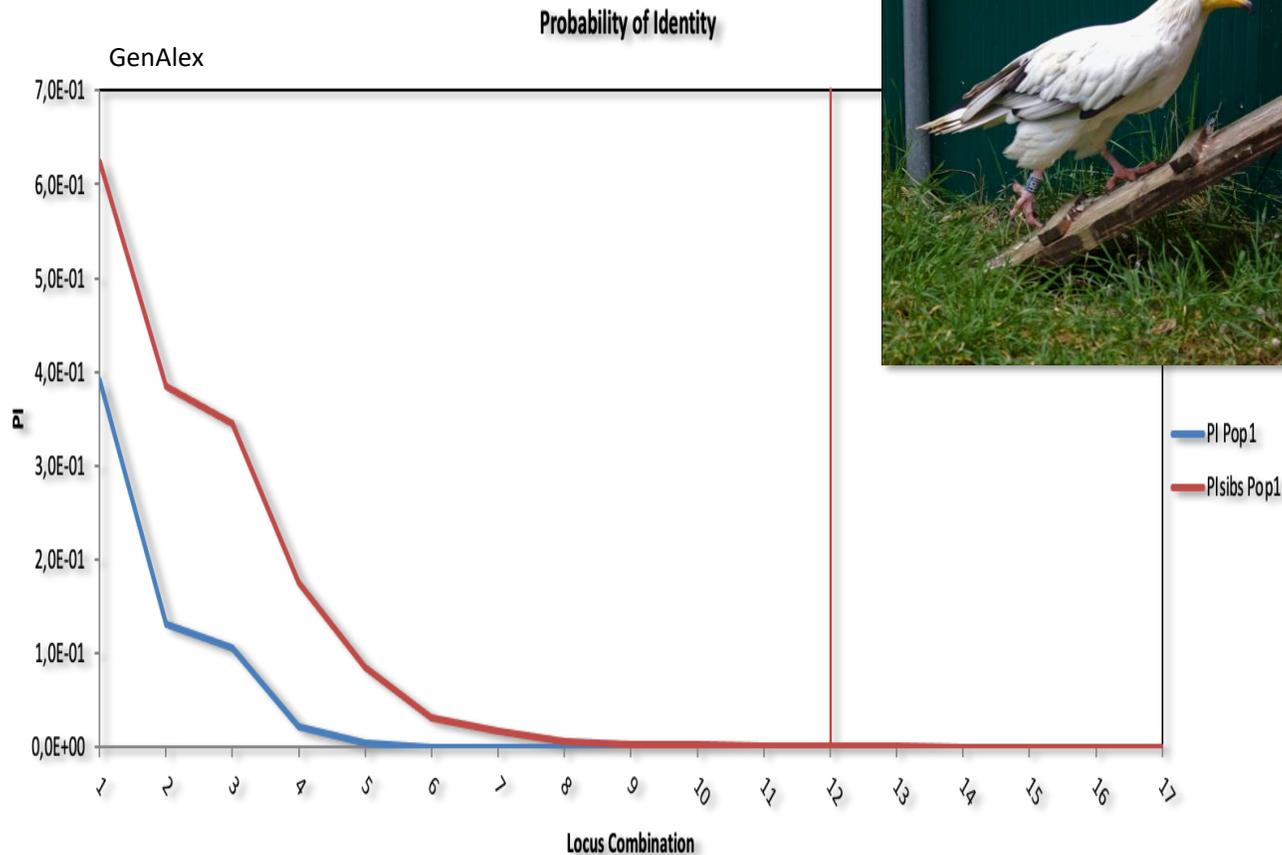
GLI STRUMENTI DELLA GENETICA – I DATI FINALI

GENOTIPI MULTILOCUS

Sample	MPH	MPH	P2F	P2F	SESSO	Np140	Np140	Np141	Np141	Np151	Np151	Np155	Np155	Np163	Np163
 Neop01	360	360	360	360	M	398	398	299	301	112	112	353	355	231	233
 Neop03	300	300	360	385	F	398	398	299	299	112	112	354	354	227	231
 Neop04	360	360	360	360	M	398	398	291	301	112	112	353	353	231	233
 Neop05	300	300	360	385	F	398	398	299	299	112	112	353	353	231	233

RISULTATI – GENOTIPIZZAZIONE INDIVIDUALE

A. Lembo



ALTA INFORMATIVITÀ PER 17 DEI 18
MARCATORI

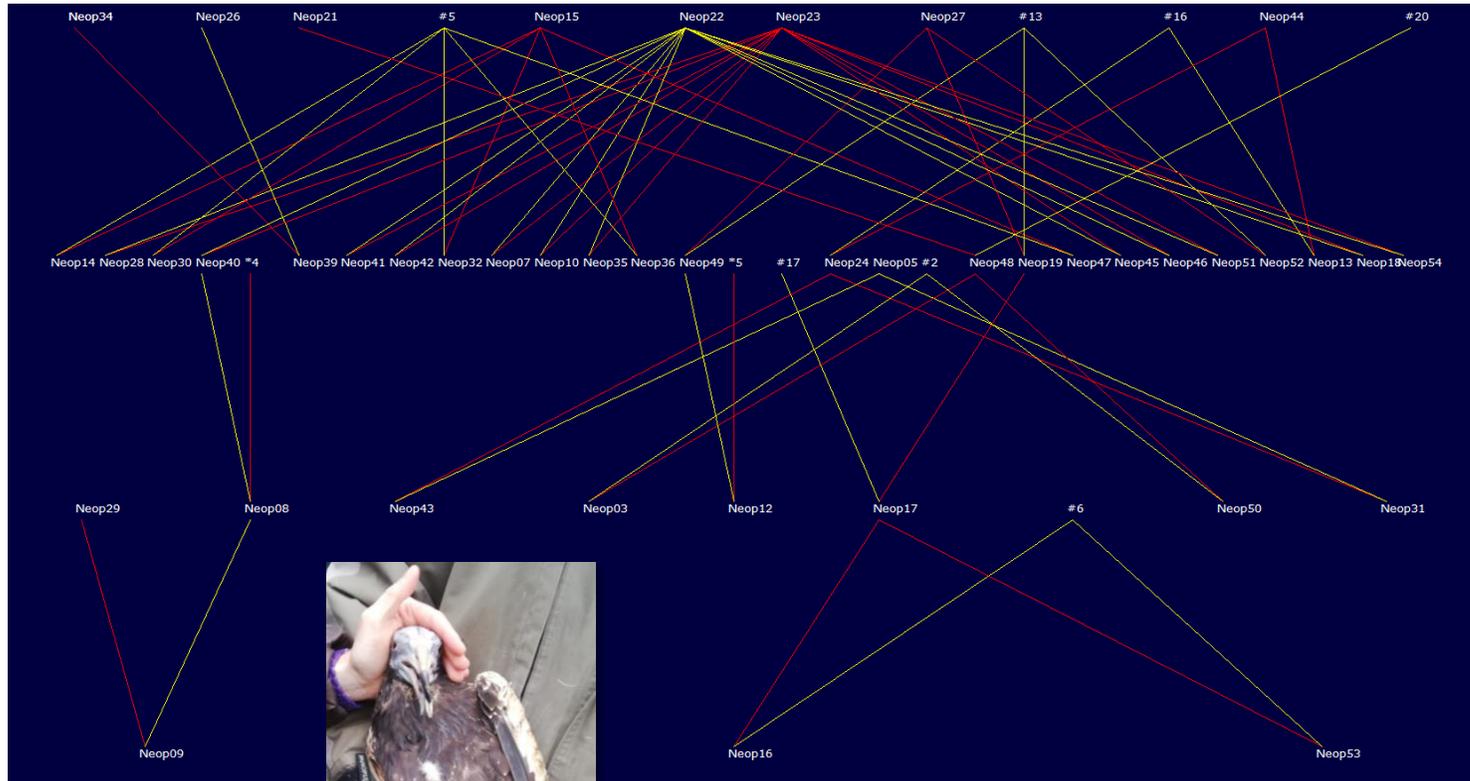


RICONOSCIMENTO INDIVIDUALE:
6 MARCATORI SUFFICIENTI
12 RACCOMANDATI



- ✓ MONITORAGGI GENETICI DELLE POPOLAZIONI NATURALI
- ✓ RICAMPIONAMENTI POST-RILASCIO
- ✓ IDENTIFICAZIONI FORENSI

RISULTATI – RICOSTRUZIONE PARENTELE



Colony – Pedigree viewer

A. Lembo

IPOSTESI NUCLEI FAMILIARI



ANALISI PROBABILISTICHE
(MAXIMUM LIKELIHOOD)



RICOSTRUZIONE DISCENDENZE



- ✓ ACCERTAMENTI CITES
- ✓ SUCCESSO RIPRODUTTIVO

RISULTATI – VARIABILITÀ GENETICA

PARAMETRO	VALORE MEDIO CERM	VALORE MEDIO EUROPEO
NUMERO DI ALLELI:	4,82	3,73
RICCHEZZA ALLELICA :	4,79	2,81
ETEROZIGOSITÀ ATTESA:	0,51	0,54
ETEROZIGOSITÀ OSSERVATA:	0,50	0,52
INDICE DI INBREEDING:	NS	NS



Bounas et al. 2023

Buon livello di variabilità genetica, in linea con i valori delle popolazioni europee

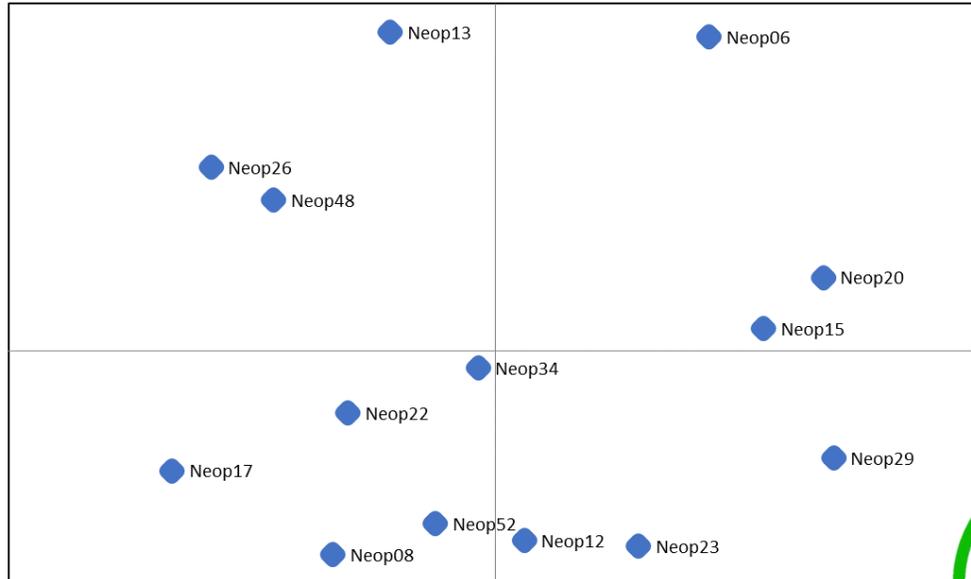


G. Ceccolini

RISULTATI – STRUTTURA

Loci neutrali - microsatelliti

Analisi Fattoriale

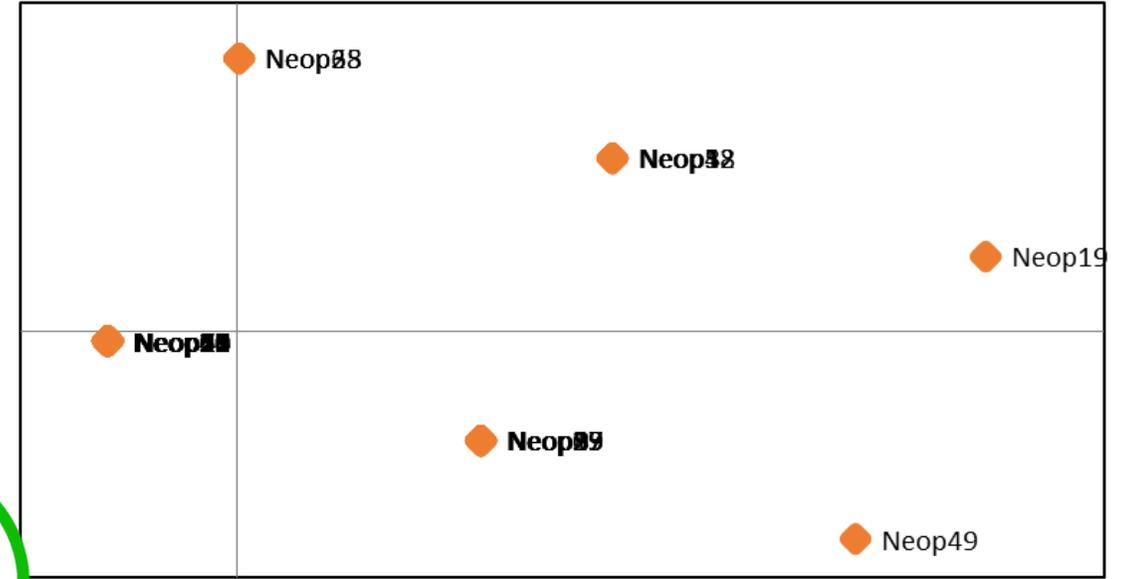


Mancanza di struttura genetica coerente con la meta-popolazione europea



Loci funzionali – geni Clock

Analisi Fattoriale



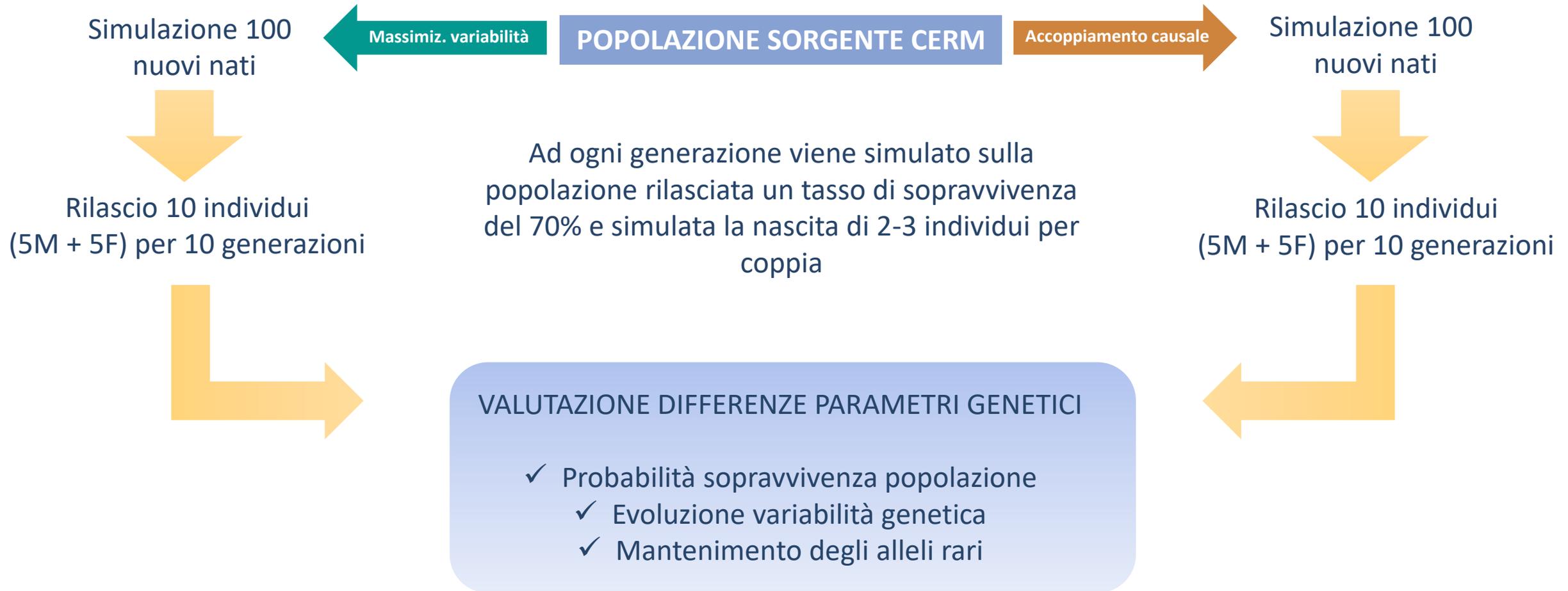
Minor variabilità

numero di alleli medio = 1,5

eterozigosità media = 0,09

Mancanza di struttura = no segnale di adattamenti locali

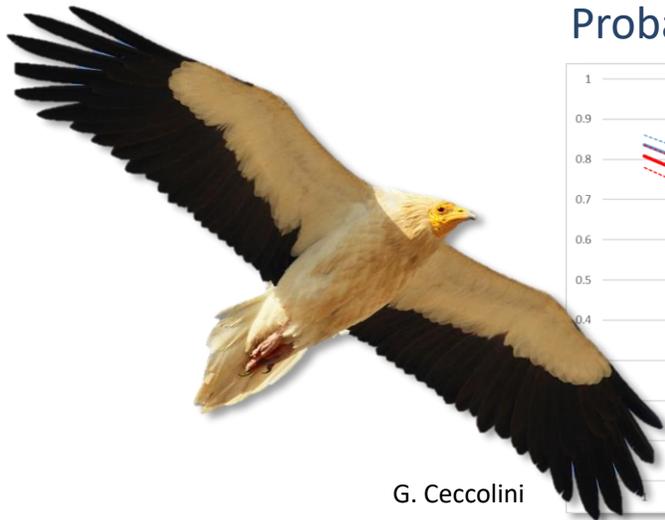
RISULTATI – SIMULAZIONI



RISULTATI – SIMULAZIONI

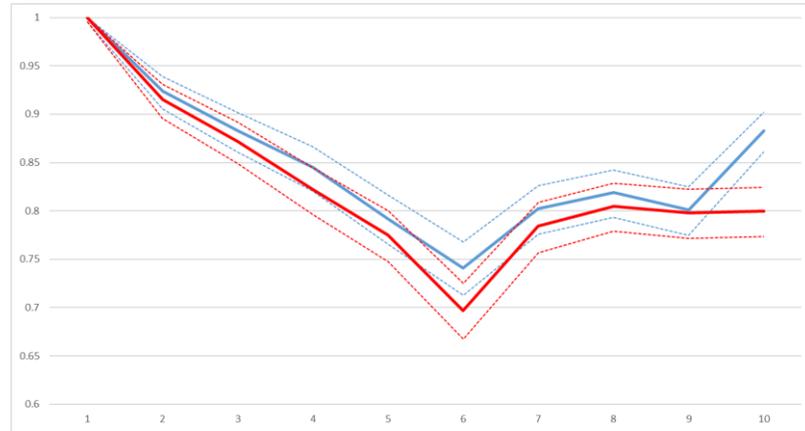
MASSIMIZZAZIONE VARIABILITÀ
ACCOPIAMENTO CASUALE

DIFFERENZE NON
SIGNIFICATIVE

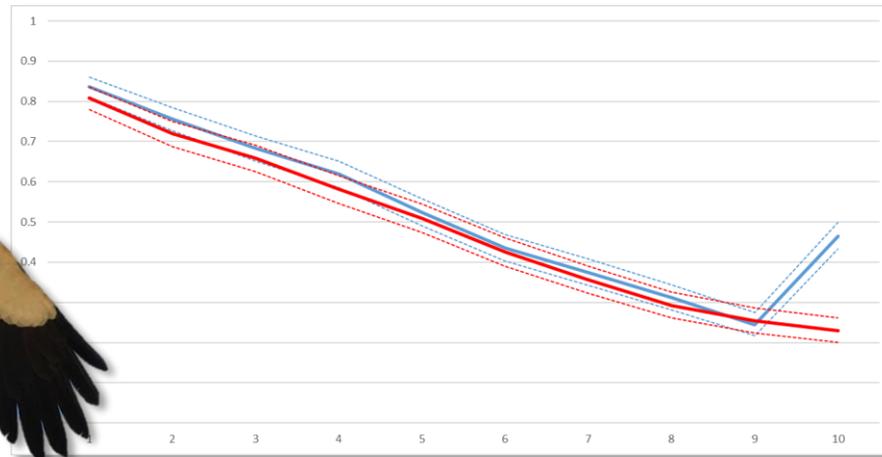


G. Ceccolini

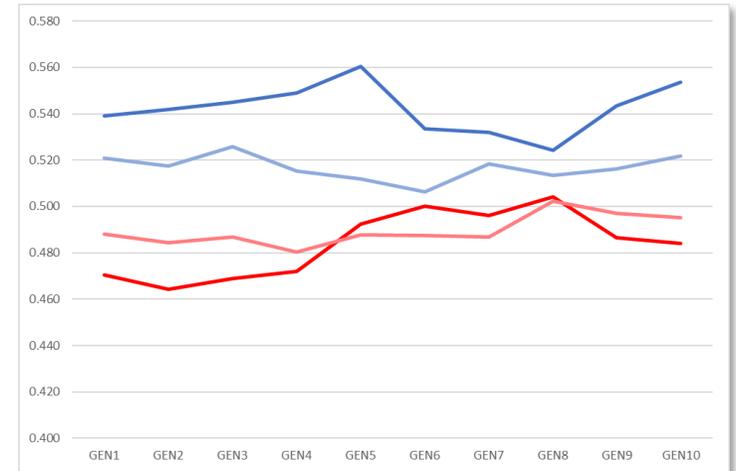
Probabilità popolazione vitale



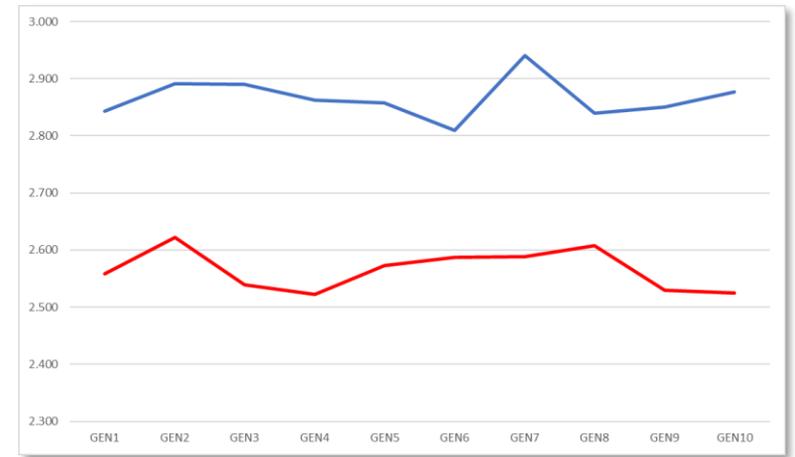
Probabilità mantenimento alleli rari



Evoluzione eterozigotità (scuro osservata, chiaro attesa)



Evoluzione ricchezza allelica



CONSIDERAZIONI FINALI

- ✓ VERIFICA STATO DI SALUTE GENETICO DELLO *STOCK* RIPRODUTTIVO *EX-SITU*
- ✓ CONFERMA DELL'IDONEITÀ DELLO *STOCK* RIPRODUTTIVO PER PROGRAMMI DI REINTRODUZIONE
- ✓ CREAZIONE BANCA DATI GENETICA PER FUTURI PIANI DI MONITORAGGIO
- ✓ INDIVIDUAZIONE DI PANNELLI DI MARCATORI GENETICI IDONEI PER MONITORAGGI NON-INVASIVI

PROSPETTIVE FUTURE

- ✓ TEST DEL PANNELLO DI MARCATORI SVILUPPATO SU CAMPIONI NON-INVASIVI
- ✓ POSSIBILI APPLICAZIONI DEL PANNELLO DI GENI CLOCK O DI STUDI DI GENOMICA SU PATTERN MIGRATORI

B. Frau





GRAZIE PER L'ATTENZIONE!