

LA RESISTENZA GENETICA ALLE PARASSITOSI
GASTROINTESTINALI: ESPERIENZE CONDOTTE SULLA
RAZZA OVINA MASSESE

THE GENETIC RESISTANCE TO GASTROINTESTINAL PARASITE:
A CASE OF STUDY ON MASSESE SHEEP

LORELLA GIULIOTTI ⁽¹⁾, NOVELLA BENVENUTI ⁽¹⁾, JACOPO GORACCI ⁽²⁾,
FRANCESCA CECCHI ⁽¹⁾, DARIO CIANCI ⁽³⁾

RIASSUNTO

La ricerca è stata condotta in un allevamento di pecore di razza Massese, allo scopo di valutare i coefficienti di ereditabilità e ripetibilità dei principali caratteri fenotipici legati alla resistenza alle strongilosi gastrointestinali: conta fecale di uova ed ematocrito.

Il coefficiente di ereditabilità della conta di uova nelle feci è risultato piuttosto basso con un valore di 0.10, mentre leggermente superiore è stato quello di ripetibilità pari a 0.16. Per l'ematocrito i valori sono decisamente più favorevoli, rispettivamente di 0.22 e 0.58.

I risultati ottenuti per quest'ultimo parametro forniscono indicazioni interessanti sulla possibilità di adottare idonei piani di miglioramento genetico per questi parametri. Per la conta fecale di uova si rilevano valori tendenzialmente bassi che evidenziano la necessità di ulteriori approfondimenti.

Parole chiave: ovini, resistenza genetica, parassitosi gastrointestinali.

SUMMARY

In small ruminants gastrointestinal parasitosis represent a severe limit to the quality of productions and animal welfare. The difference between the dissimilar levels of sheep's infection in the flock is a relevant marker of the high variability about the gastrointestinal parasite resistance. In fact, there is considerable interest in the assessment of the resistance of a parasitised host, especially for nutrition and breeding studies.

The aim of this work is the evaluation, in a farm of ovine Massese's breed, of heritability and repeatability coefficients about the main phenotypic traits connected with resistance to gastrointestinal strongylosis: faecal egg count and packed cell volume.

⁽¹⁾ Dipartimento di Produzioni Animali, Direttore Prof. Paolo Verità.

⁽²⁾ Titolare di assegno di Ricerca, Dipartimento di Produzioni Animali, Direttore Prof. Paolo Verità.

⁽³⁾ Dipartimento di Fisiologia Generale ed Ambientale – Università di Bari.

Ricerca effettuata con fondi Ateneo 2001.

Animals were tested eight times, during periods of moderate and high elmints infestations. One faecal sample per animal was collected and processed in order to determine the faecal egg count, using the modified McMaster technique by Permin and Hansen, transforming the values obtained into natural logarithm log (FEC + 25). At the time of faecal collection, the animal also underwent blood analyses for determination of haematocrit.

These preliminary results show that heritability coefficient of faecal egg count was quite low, with a value of 0.10; repeatability coefficient was little higher, with a value of 0.16. Packed cell volume genetic values were clearly more favourable, presenting respectively 0.22 (heritability) and 0.58 (repeatability).

These results, derivate from first italian studies on Massese's breed, can give an interesting direction on the possibility to adopt suitable genetic improvement plans for gastrointestinal parasite resistance and, in particular, low coefficients of faecal egg count underline the needs of further significant investigations.

Key words: ovine, genetic resistance, gastrointestinal parasitosis.

INTRODUZIONE

Il processo di selezione genetica mirato al miglioramento dei caratteri legati alle produzioni quantitative è stato accompagnato dalla crescita dei problemi sanitari.

Questo fenomeno nella zootecnia convenzionale viene affrontato con l'uso sistematico di piani sanitari basati su terapie farmacologiche; tale modo di operare non è compatibile con la zootecnia biologica, fondata su un approccio sostenibile e su strategie di controllo preventive a tutti i livelli: dalla gestione del pascolo, alle tecniche di allevamento, all'alimentazione.

Inoltre, l'aumento delle spese veterinarie e di management negli allevamenti "tradizionali", la sfavorevole correlazione tra produttività e benessere animale, il diffondersi del fenomeno di farmaco-resistenza, la nascita di "nuove" patologie, la sempre maggiore perdita di biodiversità nelle popolazioni animali e la conseguente crescente domanda da parte dei consumatori di prodotti di qualità provenienti da animali in buone condizioni di salute, sono tra i motivi che spingono verso un sistema di gestione sostenibile delle aziende agro-zootecniche.

Lo studio della resistenza genetica alle parassitosi gastrointestinali nella specie ovina si inserisce a pieno titolo nel quadro di una gestione eco-compatibile e integrata di una delle patologie più diffuse in questo tipo di allevamento.

Non sono più proponibili, infatti, cure sistematiche a calendario, bensì strategie di profilassi e terapie mirate, dirette a quegli animali individuati come maggiormente infettanti all'interno del branco, in nome anche di un risparmio economico derivato da un minor numero di applicazioni.

Inoltre, molti studi e la stessa pratica aziendale hanno dimostrato, a riguardo, l'impossibilità di fermare le infestazioni parassitarie solamente con medicinali allopatrici, utilizzati sia come profilassi che come terapia (Wells, 1999).

La bibliografia sull'argomento risulta concentrarsi su ricerche limitate ai Paesi in via di sviluppo, dove questo problema provoca i maggiori danni agli allevamenti. Fra le razze studiate e riconosciute come resistenti alle parassitosi sostenute da strongili gastrointestinali troviamo la Red Maasai (Kenia) (Baker et al., 2002), la Withedorper (Africa del Sud) e la Djallonke (Senegal, Gambia) (Fall, 1999). Gli studi esaminati si occupano sia dell'analisi degli stati fisiologici degli animali correlati con il livello di infestazione, sia dell'importanza della razione da un punto di vista quanti-qualitativo nella prevenzione e nel trattamento delle parassitosi gastrointestinali.

I parametri genetici che devono essere conosciuti per la conduzione di efficaci piani di selezione sono l'ereditabilità e la ripetibilità. Il primo ci indica se la selezione potrà portare ad un miglioramento del carattere e a quale tasso (Massey, Vogt, 1993), il secondo rappresenta la frazione più ampia della variabilità attribuibile a condizioni genetiche determinate attraverso il grado di associazione esistente tra misurazioni ripetute effettuate sullo stesso animale per lo stesso carattere.

Il parametro più diffusamente utilizzato per la stima della resistenza agli strongili gastrointestinali è l'escrezione fecale di uova espressa dal parametro FEC (Faecal Egg Count), che costituisce il metodo più efficace per stimare il livello dell'infestazione influenzato da fattori ambientali e fisiologici, ma anche dalla suscettibilità o dalla resistenza ai parassiti. L'altro carattere adottato per questo scopo è l'ematocrito (PCV – Packed Cell Volume); questo parametro fornisce informazioni sul livello di anemia raggiunto dall'animale in seguito alle parassitosi e, come tale, può essere ritenuto un indicatore indiretto del livello di infestazione, soprattutto per parassiti ematofagi come l'*Haemonchus contortus* (Baker, 1997).

I risultati delle ricerche svolte fino ad oggi e la direzione ormai

ben definita delle richieste espresse dai consumatori, indicano che la via di un concreto piano di ricerca basato sull'azione della selezione genetica del carattere legato alla resistenza può essere ritenuta una strategia vincente per limitare i danni diretti e indiretti delle infestazioni gastrointestinali (Amyes, Greer, 1995; Detilleux, 2001; Kahn et al., 2003).

Alla luce di tali considerazioni questo lavoro si inserisce nell'ambito di una linea di ricerca portata avanti da questo Dipartimento sulla resistenza genetica alle parassitosi gastrointestinali negli ovini; in particolare lo scopo del presente studio è stato quello di stimare i parametri genetici di FEC e PCV in pecore di razza Massese.

MATERIALI E METODI

La prova è stata condotta su ovini di razza Massese iscritti al libro genealogico, allevati in un'azienda situata in una zona pianeggiante a ridosso del litorale pisano.

Nell'allevamento, grazie alle schede aziendali fornite dall'Associazione Provinciale Allevatori di Pisa, sono state individuate 85 coppie di pecore madri e figlie.

Gli animali non hanno ricevuto alcun trattamento antiparassitario negli otto mesi antecedenti alla prova sperimentale e durante la stessa.

Dai soggetti sono stati prelevati campioni individuali di feci, su cui è stato valutato il parametro FEC tramite la conta delle EPG (Egg Per Gram), e di sangue per la determinazione del parametro PCV. La conta delle uova è stata effettuata utilizzando la tecnica di Permin e Hansen (1998) modificata e attraverso l'uso della camera di lettura Mc Master, mentre per il PCV è stata utilizzata la camera contaglobuli (I.Z.S.R.L.T., 2003).

Per l'analisi statistica i dati relativi alle EPG sono stati trasformati logaritmicamente secondo la formula $y = \log (FEC+25)$ (Baker et al., 1997), per correggere l'eterogeneità della varianza e per ottenere una distribuzione normale dei dati.

L'ereditabilità di FEC e PCV è stata ottenuta attraverso la regressione figlia-madre.

Le relazioni tra i valori mensili di FEC, PCV e tra FEC e PCV sono state stimate tramite le correlazioni semplici mentre la ripetibi-

lità dei due parametri è stata testata con il metodo delle correlazioni intra-classe utilizzando il seguente modello:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

dove:

y_{ij} = parametri considerati (FEC e PCV);

μ = media generale;

α_i = effetto casuale del soggetto i-esimo;

ε_{ij} = errore casuale.

Tutte le stime delle componenti della varianza per la ripetibilità sono state ottenute tramite procedura REML usando il metodo Newton-Rapson (Patterson et al., 1974; Harville, 1977; Searle, 1971).

Il coefficiente di ripetibilità è stato calcolato dal rapporto tra le seguenti componenti della varianza:

$$r = \sigma^2 / (\sigma_i^2 + \sigma_{\text{erroreij}}^2).$$

L'analisi statistica è stata effettuata mediante il software JMP, ver. 5.0 per PC, del SAS Institute (2002).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Stratificando i risultati delle EPG per classi di infestazione (1 = 0; 2 = < 300; 3 = 300-600; 4 = > 600), la popolazione esaminata risulta distribuita come riportato nello schema seguente (Tab. I).

Tab. I. Ripartizione dei valori delle EPG nelle quattro classi di infestazione.
Distribution of EPG in four levels of infection.

Livello EPG <i>EPG level</i>	% Campionamenti <i>Sampling %</i>
1	17
2	50
3	12
4	21

Da ciò si deduce che la maggior parte degli animali si trova ad un livello di infestazione medio-bassa (Nahm, 1997), in quanto il 67% dei campionamenti è rientrato nella classe al di sotto delle 300 EPG.

Il coefficiente di ereditabilità per il carattere FEC è risultato pari a 0.10, valore tendenzialmente basso, ma in linea con i valori stimati da Olayemi et al. (2002) e Gaulty, Erhardt (2001); altri Autori, tuttavia, riportano risultati superiori (Nieto e coll, 2002; Nieuwoudt et al., 2002; Vanimisetti et al., 2002; Backer et al., 1998).

Anche il valore del coefficiente di ripetibilità per tale carattere è stato piuttosto contenuto (0.16) ed inferiore alle osservazioni riscontrate in altri lavori, che riportano stime più elevate (Hoste et al., 2001; Stear et al., 2000; Doligalska et al., 1997; Stear et al., 1995; Yvone et al., 1992).

Andando a stimare la ripetibilità nel corso dell'anno, emerge un andamento non uniforme tra i vari mesi (Tab. II).

Tab. II. Correlazioni del FEC nel corso del corso dell'anno. *FEC correlations within the year.*

Mese	Anno	Apr. '01	Mag. '01	Giu. '01	Lug. '01	Set. '01	Ott. '01	Nov. '01	Mar. '02
Month	Year	Apr. '01	May. '01	June '01	July '01	Sept. '01	Oct. '01	Nov. '01	Mar. '02
Aprile <i>April</i>	2001	1							
Maggio <i>May</i>	2001	0,87*	1						
Giugno <i>June</i>	2001	0,14	0,29	1					
Luglio <i>July</i>	2001	-	-0,34	0,25	1				
Settembre <i>September</i>	2001	-0,47	-0,11	0,08	0,09	1			
Ottobre <i>October</i>	2001	-0,12	0,04	-0,01	-0,50	0,57*	1		
Novembre <i>November</i>	2001	-0,50	0,35	-0,06	-0,69	0,10	0,56*	1	
Marzo <i>March</i>	2002	-0,50	-0,04	-0,14	-1,00	0,21	-0,50	0,76	1

Tuttavia è stata evidenziata una correlazione significativa tra i mesi autunnali (ottobre con settembre e novembre) e primaverili (aprile con maggio), caratterizzati da un'elevata piovosità e da temperature miti (Fig. 1), condizioni ottimali per la proliferazione parassitaria.

Il valore medio del PCV è risultato pari a 27.30 ± 3.57 : tali dati sono di poco inferiori ai valori di riferimento (28-35) riportati dall'I.Z.S.R.L.T. (2003), mentre si discostano leggermente dal range

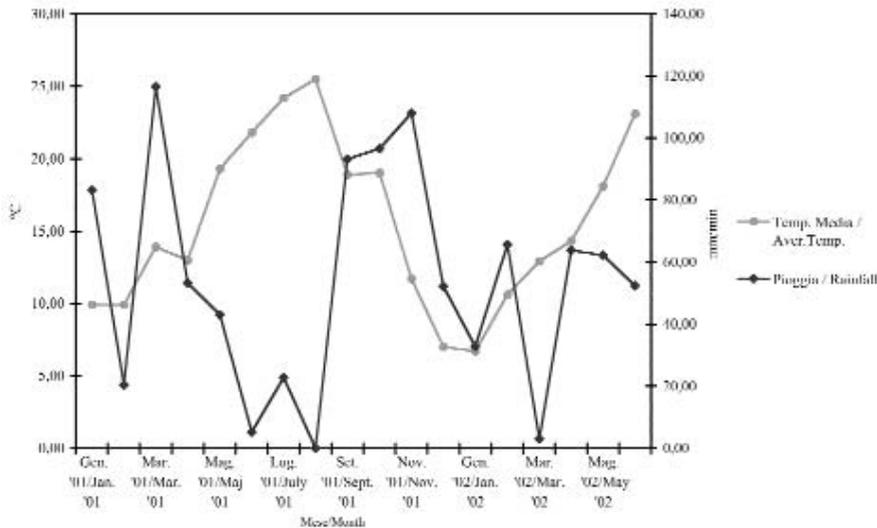


Fig. I. Andamento di temperatura e piovosità nel corso dell'anno. *Temperature and rainfall trend within the year.*

di variabilità (0.30-0.32 I/I) riscontrato dalla Commissione di Studio A.S.P.A. (1999).

L'ereditabilità riferita al carattere PCV è risultata di 0.22, in linea con quanto riferito per la specie caprina da Hoste et al. (2001), Gauly, Erhardt (2001) e Olayemi et al. (2002), che hanno rilevato un range compreso rispettivamente tra 0.23-0.43, 0.19-0.26 e 0.18-0.74.

Il valore della ripetibilità è piuttosto elevato (0.58) indicando la maggior incidenza dei fattori permanenti sulla variabilità totale. Tale coefficiente concorda con quanto riportato da Vanimisetti et al. nel 2002 (0.53), discostandosi però dal valore di 0.44 trovato da Bekele, Kasali (2002).

Dai risultati relativi alle correlazioni dei valori del PCV durante l'anno non è emerso un andamento ben definito; la tabella 2 riporta nel dettaglio i valori dei diversi coefficienti di correlazione con le relative significatività.

È stata testata, inoltre, la correlazione tra FEC e PCV, che però non ha fornito risultati significativi: ciò potrebbe spiegare l'assenza di un andamento sovrapponibile a quello rilevato nel FEC.

Tab. III. Correlazioni del PCV nel corso dell'anno. *PCV correlations within the year.*

Mese <i>Month</i>	Anno <i>Year</i>	Mag.	Giu.	Lug.	Sett.	Ott.	Nov.	Mar.
		'01	'01	'01	'01	'01	'01	'01
		<i>May.</i>	<i>June</i>	<i>July</i>	<i>Sept.</i>	<i>Oct.</i>	<i>Nov.</i>	<i>Mar.</i>
		'01	'01	'01	'01	'01	'01	'01
Maggio <i>May</i>	2001	1						
Giugno <i>June</i>	2001	0,34	1					
Luglio <i>July</i>	2001	0,34	-0,13	1				
Settembre <i>September</i>	2001	0,59*	0,27	0,21	1			
Ottobre <i>October</i>	2001	0	0,17	0,91**	-0,07	1		
Novembre <i>November</i>	2001	0,52*	-0,16	-0,27	0,76**	0,13	1	
Marzo <i>March</i>	2002	0,34	-0,23	0,67	0,30	-0,30	0,06	1

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti si collocano nell'ambito di indagini condotte per stimare la resistenza genetica alle parassitosi gastrointestinali in razze ovine che, o per consistenza numerica (Sarda, Massese) o per rilevanza "storico-culturale" (Zerasca), risultano di particolare importanza nel contesto zootecnico toscano.

Da questa prova condotta sulla razza Massese emerge che il livello di infestazione dei soggetti risulta contenuto, non superando le 300 EPG nel 67% dei campionamenti effettuati, nonostante l'assenza di trattamenti specifici.

La stima dei parametri genetici ha fatto osservare un più elevato coefficiente di ereditabilità per l'ematocrito rispetto all'escrezione fecale di uova (0.22 vs 0.10). Per quanto riguarda invece il coefficiente di ripetibilità la stima ha fornito valori rispettivamente pari a 0.58 e 0.16.

Le correlazioni tra i valori mensili del FEC e del PCV presentano un andamento dissimile, probabilmente attribuibile al fatto che non sono risultati correlati i due parametri sottoposti in esame.

Viene confermata quindi l'esistenza di una base genetica di questa resistenza.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia l'Associazione Provinciale Allevatori di Pisa e l'Azienda Agricola Pedrazzi Renzo per la gentile collaborazione.

BIBLIOGRAFIA

- AMYES N., GREER G. (1995). Breeding sheep resistant to internal parasites. *AgFACT*, 24.
- BAKER R.L., MUGAMBI J.M., AUDHO J.O., CARLES A.B., THORPE W. (2002). Comparison of Red and Droper sheep for resistance to gastrointestinal nematode parasites, productivity and efficiency in a humid and semi-arid environment in Kenya. 7th World congress on genetic applied to livestock production, Montpellier, France.
- BAKER R.L. (1997). Resistance genetique des petits ruminants aux helminthes en Afrique. *INRA Prod. Anim.*, 10: 99-110.
- BAKER R.L., REGE J.E.O., TEMBELY S., MUKASA-MUGERWA E., ANINDO D., MWAMACHI D.M., THORPE W., LAHLOU-KASSI A. (1998). Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in some indigenous breeds of sheep and goats in East Africa. *Proc. 6th W. Congr. Gen. Appl. Liv. Prod.*, Armidale, Australia, 11-16 January.
- BEKELE T., KASALI O.B. (2002). The effects of endoparasites on the productivity of Ethiopian highland sheep. *Proceedings of the First Biennial Conference of the African Small Ruminant Research Network. ILRAD, Nairobi, Kenya, 10-14 December 1990 (Section 3).*
- COMMISSIONE DI STUDIO A.S.P.A. "Valutazione dell'assetto endocrino metabolico degli animali in produzione zootecnica" (1999). Guida all'interpretazione dei profili metabolici. Università di Perugia.
- DETILLEUX J. (2001). Genetic improvement of resistance to infectious disease in livestock. *J. Dairy Sci.*, 84 (E. Suppl.): E39-E46.
- DOLIGALSKA M., MOSKVA B., NIZNIKOWSKI R. (1997). The repeatability of faecal egg counts in Polish Wrzosówka sheep. *Vet. Paras.*, 70: 241-246.
- FALL A. (1999). Peul, Touabire and Djallonke sheep breeding programmes in Senegal. *Workshop Devel. Breed. Strat. Lower Input Anim. Prod. Env.*, Bella, Italy, 22-25 September: 321-338.
- GAULY M., ERHARDT G. (2001). Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhön sheep following natural infection. *Vet. Paras.*, 102: 253-259.
- HARVILLE D.A. (1977). Maximum Likelihood Approaches to Variance Component Estimation and to Related Problems. *J. Am. Stat. As.*, 72: 320 -338.
- HOSTE H., LE FRILEUX Y., POMMARET A. (2001). Distribution and repeatability of faecal egg counts and blood parameters in dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Res. Vet. Sci.*, 70: 57-60.
- HOSTE H., LE FRILEUX Y., POMMARET A. (2002). Comparison of selective and systematic treatments to control nematode infection of the digestive tract in dairy goats. *Vet. Paras.*, 106: 345-355.

- ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA. (2003). Esame emocromocitometrico. Prove accreditate SINAL, Pos ccr 015 Int. Rev., (5).
- JMP (2002). J.M.P. User's Guide ver. 5.0, S.A.S. Institute Inc., Ed. Cary (NC), USA.
- KAHN L.P., KYRIAZAKIS I., JACKSON F., COOP R.L. (2000). Temporal effect of protein nutrition on the growth and immunity of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. for Paras.*, 30: 193-205.
- MASSEY J.W., VOGT D.W. (1993). Heritability and its use in animal breeding. *Coop. Ext. Work Acts*, May 8 and June 30.
- NAHM J. (1997). Significance of eggs per gram counts. University of Missouri college of veterinary medicine. www.missouri.edu.
- NIETO L.M., MARTINS E.N., DE MACERO F.A.F., SAKAGUTI E.S., DOS SANTOS A.I. (2002). Parametros para indicadores de resistencia genetica de ovinos a los endoparasitos en el Sur de Brasil. *Liv. Res. Rur. Dev.*, 14 (2).
- NIEUWOUDT S.W., THERON H.E., KRUGER L.P. (2002). Genetic parameters for resistance to *Haemonchus contortus* in Merino sheep in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 73 (1): 4-7.
- OLAYEMI M.E., WALKDEM-BROWN S.W., VAN DER WERF J.H.J., LE JAMBRE L.F. (2002). Genetic variability of resistance indicators for gastrointestinal nematode infection in Angora and Cashmere Goats. 7th World Cong. Gen. Appl. Liv. Prod., Aug. 19-23, Montpellier, France, Section 13, Abs. 13.
- PATTERSON H.D., THOMPSON R. (1974). Maximum Likelihood Estimation of Variance Components. p. 197-207. In *Proc. Int. Biometric Conf.*, Constanta, Romania. 25-30 Aug., 1974, Washington, DC.
- PERMIN A., HANSEN J. (1998) Epidemiology, diagnosis and control of poultry parasites. *FAO Animal health manual*.
- SEARLE S.R. (1971). *Linear Models*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- STEAR M.J., BISHOP S.C., DUNCAN J.L., Mc KELLAR Q.A., MURRAY M. (1995). The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. *It. J. Paras.*, 25 (3): 375-380.
- STEAR M.J., MITCHELL S., STRAIN S., BISHOP S.C., Mc KELLAR Q.A. (2000). The influence of age on the variation among sheep in susceptibility to natural nematode infection. *Vet. Paras.*, 89: 31-36.
- VANIMISSETTI H.B., ANDREW S.L., ZAJAC A.M., NOTTER D.R. (2002). Genetic and phenotypic relationships among faecal egg count, packed cell volume and body weight in sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Proceedings of the X International Congress of the Asian Australasian Association of Animal Production Societies*, New Delhi India, September: 23-28.
- WELLS A. (1999). Integrated parasite management for livestock. *Livestock Sys. Guide*, ATTRA, U.S. Dept. Agric.
- YVORE P., CABRET J., SOLON S. (1992). Repeatability of faecal egg counts in natural infections with *Eimeria* spp. *Int. J. Paras.*, 22 (4): 515-518.