

## UNA BANCA DEL GENOMA PER LA RAZZA CHIANINA IN UMBRIA

**Lasagna E. (1), Sorbolini S. (1), Filippini F. (2), Sarti F.M. (1), Gallastroni L. (1), Panella F. (1)**

(1) *Dipartimento di Scienze Zootecniche - Università di Perugia – Borgo XX Giugno, 74 - 06121 Perugia, Italia*

(2) *ANABIC – Via Visciolosa, 06070 S. Martino in Colle, Perugia, Italia*

**RIASSUNTO** - Il progetto è stato realizzato al fine di ottenere una banca del DNA della Chianina allevata in Umbria. In quattro anni devono essere processati 5100 campioni a partire da 4500 vacche e 600 tori. Ciascun campione di DNA deve essere diviso in tre differenti aliquote e conservato in tre differenti luoghi, perciò risultano necessari 30-40 µg di DNA da ciascun animale. Al fine di ottimizzare il protocollo operativo sono state valutate diverse metodiche. Il DNA ottenuto viene conservato in criotubi a – 80° C per proteggerne l'integrità.

**PAROLE CHIAVE:** DNA, Banca del genoma, Chianina.

### INTRODUZIONE

Negli ultimi trent'anni lo studio molecolare del DNA è notevolmente progredito anche nel settore zootecnico. I dati provenienti dall'indagine molecolare, infatti, stanno prendendo sempre più importanza all'interno del processo selettivo consentendo, in certe occasioni, di risparmiare del tempo prezioso nella stima del valore genetico di potenziali riproduttori. La disponibilità di campioni di DNA ha inoltre consentito di mettere in atto numerose strategie di tracciabilità dei prodotti alimentari di origine animale, offrendo così una maggior tutela e sicurezza ai consumatori. Tutti i fattori precedentemente menzionati indicano l'importanza delle banche del genoma, costituite da campioni di DNA, in particolare degli animali che interessano le produzioni zootecniche. Tali considerazioni hanno indotto la Regione dell'Umbria, in collaborazione con l'A.N.A.B.I.C. (Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne), il Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria ed il Dipartimento di Scienze Zootecniche dell'Università degli Studi di Perugia, a prendere in considerazione l'opportunità di creare una banca del genoma per la razza Chianina allevata in Umbria. Tale razza, unitamente alle altre razze bianche italiane da carne, sta assumendo, specialmente nell'ultimo decennio, una sempre maggiore importanza per la produzione di carne bovina di qualità. Infatti, alla luce delle recenti vicende sanitarie che hanno interessato il settore, la carne prodotta da bovini di razza Chianina è tutt'ora oggetto di forte domanda da parte del mercato, in particolar modo nel centro Italia. I prezzi hanno pertanto subito un rialzo e ciò ha conferito alla razza una maggiore redditività.

L'A.N.A.B.I.C., tramite il Consorzio Carni Bovine Italiane Garantite (CCBI), ha compiuto un ulteriore iter qualificativo che ha, finalmente, saputo attribuire i giusti meriti alle pregiatissime carni che si possono ottenere dall'allevamento della Chianina: la messa a punto di un sistema di etichettatura e la possibilità di fregiare le carcasse di questi animali con il marchio IGP "Vitellone bianco dell'Appennino Centrale", rappresentano per l'appunto l'ultimo passo compiuto nell'ottica della valorizzazione di questa razza.

Scopo del lavoro è la stesura di una metodica operativa per la gestione di una banca del genoma, sia in fase di allestimento che al termine del lavoro. In un primo momento è stata valutata anche la messa a punto di un idoneo protocollo per l'ottenimento di DNA, a partire da campioni di sangue, che andrà a costituire la suddetta banca; ciò rappresenta il primo passo per la produzione di librerie geniche, che permetteranno di avere a disposizione del DNA da sequenziare. Tutto ciò consentirà di ottenere informazioni utili sulle funzioni dei singoli geni.

Il programma di formazione della banca del genoma prevede l'effettuazione, nell'arco di quattro anni, di 5100 estrazioni di DNA; più precisamente la raccolta dei campioni sarà effettuata su un totale di 4500 vacche e 600 tori, presenti in allevamenti umbri e tutti iscritti al Libro Genealogico. Particolare attenzione è rivolta ai riproduttori, poiché possedere copie del loro DNA permetterà, in futuro, di risolvere problemi relativi alla tracciabilità o al riconoscimento di paternità dei loro discendenti.

Sin dall'inizio della fase operativa si intendeva ottenere, per ciascun animale, tre copie identiche di materiale genetico, ognuna delle quali conservata presso ciascuna istituzione che aderisce all'iniziativa, vale a dire il Dipartimento di Scienze Zootecniche, l'A.N.A.B.I.C. ed il Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria; tale prassi potrà salvaguardare da eventuali perdite di materiale, dovute a cause accidentali.

### **MATERIALI E METODI**

La necessità di suddividere il DNA in triplice copia costituisce un forte vincolo nel determinare la metodica estrattiva da impiegare, dal momento che si rende necessaria una resa minima di almeno 30 µg per ciascun campione e la maggior parte dei kit disponibili sul mercato si dimostra inadatta allo scopo. Attualmente i campioni vengono processati mediante kit Puregene GENTRA, partendo da 1,5 ml di sangue intero. Il materiale biologico utilizzato come fonte di DNA è, come già detto, il sangue e, più precisamente, la componente leucocitaria dello stesso, dal momento che gli eritrociti, nella specie bovina, si presentano anucleati. La scelta di tale substrato è dovuta al fatto che il sangue è facilmente reperibile: il suo prelievo non è invasivo per l'animale, richiede poco tempo ed ha un basso costo. Le voci di costo, infatti, sono rappresentate unicamente dal materiale necessario per il prelievo e dalla manodopera. In tabella 1 è riportato lo stato di avanzamento del progetto, ad oggi, distinto tra le due province coinvolte.

### **DISCUSSIONE DEI RISULTATI**

Il DNA ottenuto è stato stoccato a - 80°C in CRIO-TUBI muniti di guarnizione al fine di evitare l'evaporazione del tampone di eluizione. La scelta di tale temperatura di conservazione è dovuta al fatto che i campioni estratti devono essere conservati per periodi molto lunghi; lo scopo della costituzione della banca del genoma, infatti, è proprio quello di custodire materiale genetico, da poter eventualmente utilizzare in caso di effettiva necessità.

### **CONCLUSIONI**

La costituzione di una banca del genoma, che mette a disposizione un così elevato numero di campioni di DNA, rappresenta senza dubbio il primo passo per intraprendere uno studio, su base molecolare, volto alla tipizzazione della razza Chianina. Sarà infatti possibile effettuare studi basati sull'impiego di marcatori molecolari volti all'individuazione di alleli favorevoli; tali informazioni potranno poi essere utilizzate per le scelte selettive, unitamente ai dati provenienti dai metodi tradizionali di selezione, di tipo quantitativo.

Tabella 1 – Stato di avanzamento del lavoro, distinto per provincia e categoria.

Table 1 – State of art, by province and category.

	Tori <i>Sires</i>	Vacche <i>Cows</i>
Perugia		
Numero campioni processati <i>Number of samples processed</i>	51	1286
Numero allevamenti coinvolti <i>Number of farms involved</i>	35	104
Terni		
Numero campioni processati <i>Number of samples processed</i>	4	241
Numero allevamenti coinvolti <i>Number of farms involved</i>	4	37

## A GENOME BANK FOR THE CHIANTINA BREED REARED IN UMBRIA

**Lasagna E. (1), Sorbolini S. (1), Filippini F. (2), Sarti F.M. (1), Gallastroni L. (1), Panella F. (1)**

**ABSTRACT** - The research was carried out in order to obtain a DNA bank of Chianina breed in Umbria. In four years 5100 samples have to be extracted from 4500 cows and 600 sires. Each sample of DNA must be divided in three different shares and stored in three different places, therefore 30-40 µg of DNA are necessary from each animal. In order to optimise the method several solutions have been evaluated.

The DNA obtained is stocked in cryovials at – 80° C in order to preserve its integrity.

**KEYWORDS:** DNA, Genome bank, Chianina.

### INTRODUCTION

In the last years the DNA molecular study improved strongly also in the filed of animal science. As a matter of fact the parents ascertainment based on molecular analysis is getting more and more importance in the selection programs. Moreover, many traceability strategies have been setted up on animal derived feed in order to give a sure guaranty to the consumers. The reasons cited before show the necessity to have the genome banks for all the animal industry. These considerations induced the Umbria region together with A.N.A.B.I.C., Umbrian Technological Agroalimentary Park (U.T.A.P.) and Department of Animal Science (D.A.S.) of Perugia University to create the genome bank of the Chianina breed reared in Umbria. This breed in fact, such as the other white italian beef breeds, has taking a great importance in the high quality beef meat production because of the sanitary events of the last ten years the market demand of this meat showed a strong improvement, therefore its price reached up giving a bigger economic profit to this breed.

A.N.A.B.I.C., through C.C.B.I., give a special qualification to this meat, setting up the brand system of the IGP "Vitellone bianco dell'Appennino centrale".

The aim of this study to find the planning of a method right useful to create and manage a genome bank. At the beginning a suitable protocol to obtain the DNA from blood was studied. During the four years constitution 5100 DNA samples will be extracted from 4500 cows and 600 sires all reared in umbrian farms and present in the Herd Book. A special care was given to

the reproduction animal because their DNA will give the possibility to solve problems related to the traceability and the parents ascertainment of their progeny.

Three quotas of each DNA samples are obtained and each one is saved in D.A.S., A.N.A.B.I.C. and U.T.A.P. in order to protect against accidental loss.

#### **MATERIAL AND METHODS**

The requirements to divide the DNA samples in three quotas is a strong constraint in determining the extraction method to apply, each samples has to be at least 30 µg and many of the regular kits to obtain DNA, offered by the market, are unable at this purpose. At the present time the samples are processed by the Puregene Gentra kit, starting from 1.5 ml of whole blood, in more details the leucocitary part of the blood is used, because in the bovine red cells the nucleus is absent. The blood instead of other tissues was chosen because it's easy founded, its drawing is not invasive for the animal, it's cheap and can be done in short time.

Table 1 shows the state of art, at the present time, by two involved provinces.

#### **RESULTS AND DISCUSSION**

The DNA was stocked at - 80° C in cryovials to avoid the evaporation of the elution buffer. This storage temperature was chosen because the samples has to be preserve for long periods; the genome bank purpose is in fact the cold storage of this sample until there is a their effective utilisation.

#### **CONCLUSIONS**

The carried out of the genome bank with so many DNA samples is the first step of the molecular study of the Chianina breed. Using the collected DNA will be possible detect desired alleles that should be useful in the selection programs.