

Periodico dell’A.N.A.B.I.C.
Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne
(Ente Morale – D.P.R. n. 679 del 6.6.1961)

Presidente: Fausto Luchetti

Direttore: Roberta Guarcini

TAURUS SPECIALE

Anno XX – Numero 6 – Novembre/Dicembre 2008

Direttore Responsabile: Roberta Guarcini

Segretaria: Giuseppina Tarducci

Comitato di redazione: Roberta Guarcini, Andrea Quaglia, Matteo Ridolfi, Antonio Vagniluca, Chiara Berti, Gaia Martuscelli, Fiorella Sbarra, Francesco Filippini



Copertina: particolare di bovini italiani da carne (www.ideograph.it)

Spedizione in AP.70% - Filiale di Perugia

Direzione – Redazione – Amministrazione: 06132 Perugia – S. Martino in Colle

Tel. 075/6070011

Autorizzazione del Tribunale di Perugia del 12.11.1987 n. 810

PRESENTAZIONE

Nel rispetto della tradizionale impostazione del periodico, la diciannovesima edizione di Taurus Speciale propone il consueto appuntamento con gli approfondimenti scientifici dedicati alle Razze Bovine Italiane da Carne.

La raccolta consta complessivamente di 10 lavori, apprezzabili contributi di diverse importanti istituzioni scientifiche, tra cui il Consdabi, le Università di Perugia, Bologna, Pisa, Potenza etc. con le quali da lungo tempo l'Anabic intrattiene rapporti di proficua collaborazione.

Fra i diversi argomenti trattati, viene dato spazio all'alimentazione, alle patologie, all'efficienza riproduttiva, alle caratteristiche qualitative delle carni; di particolare attenzione, in questo momento, sono inoltre le ricerche dedicate alle anomalie genetiche, tema nei confronti del quale l'Anabic si sta impegnando attivamente, attraverso l'applicazione, nel Centro genetico, di protocolli di prevenzione di alcune malattie. Di grande attualità sono anche gli studi basati sulle tecniche di genetica molecolare, che progrediscono costantemente e che potranno rappresentare in futuro un valido mezzo di integrazione delle tecniche di genetica quantitativa su cui si basa al momento la selezione.

Diversi lavori sono anche dedicati alla Podolica che, insieme alle razze italiane ed europee appartenenti allo stesso ceppo, sarà protagonista di un congresso internazionale programmato in luglio 2009 in Basilicata.

Augurandoci come al solito che gli argomenti affrontati possano offrire l'opportunità per una riflessione a tutti gli operatori del settore, che soffre in questo momento di una grave crisi comune a tutto il comparto zootecnico, rivolgiamo un sentito e personale ringraziamento agli Autori dei lavori qui pubblicati, invitandoli a rinnovare il loro impegno nei confronti delle nostre razze.

IL DIRETTORE
(Roberta Guarcini)

INDAGINE DEMOGRAFICA IN UN ALLEVAMENTO DI BOVINI DI RAZZA PODOLICA

Lasagna E. (1), Landi V. (1), Frumenzio V. (1),
Iaffaldano N. (2), Sarti F. M. (1),

*(1) Dipartimento di Biologia Applicata – Sezione di Scienze Zootecniche –
Università degli Studi di Perugia, Borgo xx Giugno, 74 – 06121 Perugia*

*(2) Dipartimento SAVA – Università del Molise - Via De Sanctis s/n - 86100
Campobasso*

Riassunto – In questo lavoro si è voluta analizzare l’evoluzione dei parametri statistici legati alla produzione e riproduzione di 214 bovine di razza Podolica che si sono susseguite nell’allevamento dell’Azienda Agricola Bramante nel periodo 1981-2006. In particolare, si è prestata attenzione all’influenza esercitata dalle scelte manageriali e commerciali adottate e della loro influenza sull’efficienza dell’allevamento. Partendo dai dati del Libro Genealogico si è compilato un database sul quale effettuare le principali analisi di inferenza statistica. Dai dati riportati nel presente lavoro è possibile dedurre una situazione generale positiva nelle performance riproduttive delle vacche allevate presso l’Azienda oggetto di studio. I dati relativi ai diversi parametri demografici sono risultati coerenti con la razza allevata. Alcuni parametri negativi, quali l’abortività, sono inoltre risultati poco più che saltuari. Più problematico si presenta, invece, l’aspetto relativo alla lunghezza media dell’interparto con valori medi troppo elevati. Un’accurata gestione manageriale di tale aspetto potrebbe pertanto portare ad un rapido miglioramento della produttività aziendale.

Parole chiave: Podolica, Demografia, Statistiche vitali.

Introduzione

La demografia zootecnica studia la struttura e la dinamica delle popolazioni degli animali da reddito, sia dal punto di vista biologico che produttivo, nelle reali condizioni d’allevamento (Bettini, 1987). Lo studio della demografia zootecnica si basa su diversi aspetti quali la descrizione della struttura e della dinamica delle popolazioni animali osservando diverse dimensioni, come ad esempio quella genetica, quella ambientale e quella aziendale. Le diverse dimensioni vengono poi messe a confronto tra loro per individuare quelle che risultano più idonee dal punto di vista produttivo. Lo scopo di questa analisi e di questi confronti è di capire quali sono quei fattori che possono essere considerati come “limitanti” così da eliminarne o ridurne l’effetto sul livello produttivo. Questi aspetti vengono studiati dalla demografia attraverso l’analisi di fonti d’informazione come i registri di

stalla, le schede individuali, i censimenti ed i rilevamenti campionari. La presente indagine è stata condotta al fine di individuare i valori assunti dai principali caratteri riproduttivi nella mandria di bovine di razza Podolica allevata presso l'Azienda Agricola Bramante, ubicata a Rignano Garganico (FG). Si sono presi in considerazione i dati aziendali nel periodo 1981-2006 relativi a un totale di 214 soggetti.

Lo studio è stato effettuato osservando anche l'evoluzione storica dei parametri considerati, al fine di accertare se la selezione operata e le scelte manageriali adottate nel corso degli anni, abbiano influenzato, in senso positivo o negativo, le performance riproduttive e quindi la redditività dell'allevamento.

Materiali e metodi

Nel campione sono state prese in esame, tutte le vacche presenti, o successivamente entrate nell'allevamento, nel periodo tra il 1981 e il 2006, per un totale di 214 capi.

Le informazioni necessarie per la stesura del lavoro, che viene di seguito presentato, sono state reperite direttamente nella banca dati del Libro Genealogico della razza Podolica, detenuto dall'Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne (ANABIC).

Sulla base dei dati riscontrati è stato costruito un file di dati, che comprendeva:

- Matricola della vacca
- Anno di nascita della vacca
- Anno di inseminazione
- Anno di parto
- Tipo di inseminazione
- Ordine di parto
- Esito del parto
- Tipo di parto
- Natimortalità
- Difficoltà di parto
- Età in giorni al parto
- Età in giorni all'inseminazione

Nell'elaborazione dei dati ogni vacca si ripeteva tante volte quanti erano i suoi parti. Sulla base dei dati raccolti si è, inoltre, provveduto per ogni parto al calcolo dell'interparto, inteso come periodo (espresso in giorni) che intercorre tra un parto e il successivo.

Nell'esposizione dei dati sono stati riportati i valori relativi alle performance riproduttive della mandria, quali:

- Età al primo parto
- Interparto medio per anno di nascita (AN)
- Interparto medio per ordine di parto (OP)
- Tipo di inseminazione

- Natimortalità
- Frequenza di parti gemellari
- Frequenza degli aborti

Nell'elaborazione, il periodo antecedente al 1992, è stato preso in esame solo per il calcolo dell'interparto medio per anno di nascita della vacca, mentre non sono state considerate le altre performance riproduttive poichè il numero di osservazioni risultava ridotto e saltuario.

Inoltre, per l'analisi dei valori riguardanti il primo parto, si è deciso di non utilizzare quelli superiori a 1825 giorni e valori di interparto superiori a 1095, poiché risultavano troppo lontani dalla media.

Nell'elaborazione statistica dei dati si è proceduto al calcolo dei principali parametri di inferenza statistica (media, deviazione standard, intervallo di variabilità), considerando tutte le osservazioni disponibili senza distinzione tra i diversi ordini di parto, o suddivise per ordine di parto; talora, inoltre, per avere un'immagine dell'andamento dei caratteri studiati nel tempo sono state valutate le medie in relazione all'anno di nascita o all'anno di parto. Tutte le analisi statistiche sono state condotte con il supporto del software SAS (S.A.S., 2000), in particolare delle procedure MEANS e FREQ.

La numerosità delle osservazioni relative ad ogni carattere è riportata in tabella 1.

Tabella 1 - Numerosità delle osservazioni relative ad alcune statistiche vitali.

CARATTERE	n
Interparto (O.P.)	368
Interparto (A.N.)	527
Età I parto	120
Tipo di inseminazione	494
Esito parto	681
Tipo di parto	666
Natimortalità	676

Discussione dei risultati

Dai dati demografici reperiti sono stati ottenuti dei risultati sperimentali che, opportunamente tabulati, consentono di avere un'immagine piuttosto chiara di alcuni parametri riproduttivi, in relazione all'anno di parto o di nascita delle bovine.

In tabella 2, in cui si riporta il tipo di inseminazione praticato nei diversi anni di parto, si conferma quanto già riferito in premessa, circa la netta prevalenza della monta naturale, rispetto all'inseminazione artificiale; quest'ultima, infatti, viene praticata solo sporadicamente. Inoltre, negli anni in cui vi sono dei casi di inseminazione artificiale, la loro frequenza percentuale è decisamente bassa; unica eccezione è rappresentata dall'anno "1993" che presenta un 50% di inseminazione

di tipo strumentale, ma relativamente ad un numero globale di fecondazioni (4) decisamente lacunoso a causa di evidenti errori di rilevazione.

Quanto sopra non sorprende in quanto nell'allevamento brado la monta naturale è l'unica che garantisce congrui successi riproduttivi. L'inseminazione strumentale, infatti, richiedendo la cattura, il contenimento e la manipolazione di vacche poco abituate ad essere confinate e toccate, è sicuramente fonte di stress. Inoltre, può essere praticata solo in particolari condizioni o per determinate esigenze quali, ad esempio, la necessità di introdurre (nella speranza che dalla inseminazione artificiale si ottenga un maschio da poter utilizzare come toro) nuove linee di "sangue".

Tabella 2 - Frequenze del tipo di inseminazione in base all'anno di parto.

ANNO DI PARTO	TIPO DI INSEMINAZIONE			
	ARTIFICIALE		NATURALE	
	Numero	%	Numero	%
1992	0	0	7	100
1993	2	50	2	50
1994	0	0	9	100
1995	0	0	13	100
1996	0	0	24	100
1997	0	0	20	100
1998	0	0	63	100
1999	4	11	33	89
2000	0	0	34	100
2001	3	7,1	39	92,9
2002	0	0	48	100
2003	1	2,9	33	97,1
2004	1	2,8	35	97,2
2005	0	0	62	100
2006	3	4,9	58	95,1

Peculiarità di un tipo genetico, come la Podolica, particolarmente idoneo a forme di allevamento estensive, quali quella brada e semibrada, è la facilità di parto. In tabella 3 si osserva la quasi totale assenza di aborti che, in circa 15 anni, si sono verificati solo sei volte in sei anni diversi a fronte di 682 gravidanze, a testimonianza della buona predisposizione al parto delle fattrici, nonché del buon stato sanitario della mandria.

Tabella 3 - Frequenza dell'esito del parto in relazione all'anno di parto.

ANNO DI PARTO	ESITO DEL PARTO			
	PARTO		ABORTO	
	Numero	%	Numero	%
1992	26	100	0	0
1993	33	100	0	0
1994	40	97,6	1	2,4
1995	50	100	0	0
1996	62	98,4	1	1,6
1997	32	100	0	0
1998	67	98,5	1	1,5
1999	40	97,6	1	2,4
2000	38	100	0	0
2001	42	97,7	1	2,3
2002	49	98	1	2
2003	34	100	0	0
2004	36	100	0	0
2005	63	100	0	0
2006	64	100	0	0

A conferma di quanto sopra si fa presente che tutti i parti, durante il periodo osservato, sono risultati spontanei (dati non tabulati).

Un'immagine meno ottimistica, risulta dalla tabella 4 in cui si riportano sempre per il periodo 1992-2006, la vivimortalità dei vitelli alla nascita.

Tabella 4 - Frequenza dei nati vivi o morti in relazione all'anno di parto.

ANNO DI PARTO	NATI			
	VIVI		MORTI	
	Numero	%	Numero	%
1992	25	96,1	1	3,9
1993	32	97	1	3
1994	39	97,5	1	2,5
1995	48	96	2	4
1996	61	98,4	1	1,6
1997	29	90,6	3	9,4
1998	65	97	2	3
1999	32	80	8	20
2000	36	94,7	2	5,3
2001	41	97,6	1	2,4
2002	46	93,9	3	6,1
2003	34	100	0	0
2004	31	86,1	5	13,9
2005	60	95,2	3	4,8
2006	59	92,2	5	7,8

Solo in un caso (2003) non si è avuto alcun decesso alla nascita. In alcuni anni la mortalità è risultata episodica e tale da non destar particolari preoccupazioni. Si intende fare riferimento al quinquennio 1992-1996, così come al biennio 2000-2002 o all'anno 1998 in cui si registravano al massimo 2 morti alla nascita con percentuali che oscillavano tra il 2 e il 5%. In altri periodi, le percentuali di mortalità sono risultate più elevate come il 9,4% del 1997, il 20% del 1999 e il 6,1% del 2002. Particolare attenzione va posta all'ultimo triennio in cui si sono registrate 13 morti, pari a circa l'8 % dei nati. Va ragionevolmente ipotizzato che i casi di mortalità sopra commentati sono stati determinati da patologie, rapidamente risolte.

È infatti da ritenersi del tutto improbabile che i decessi possano essere attribuiti a scarsa attitudine materna, essendo note le ottime capacità della Podolica di accudire il redo, sia relativamente alla quantità di latte prodotto, sia per le altre spiccate cure parentali che la caratterizzano.

La prolificità (tabella 5) è risultata in linea con quella tipica della specie e, quindi, anche delle altre razze di origine (Maremmiana) o di derivazione (Chianina, Marchigiana e Romagnola) Podolica.

Tabella 5 - Frequenza del tipo di parto in relazione all'anno di parto.

ANNO DI PARTO	TIPO DI PARTO			
	SINGOLO		GEMELLARE	
	Numero	%	Numero	%
1992	16	100	0	0
1993	33	100	0	0
1994	40	100	0	0
1995	50	100	0	0
1996	60	96,8	2	3,2
1997	31	96,9	1	3,1
1998	67	100	0	0
1999	38	95	2	5
2000	36	94,7	2	5,3
2001	42	100	0	0
2002	49	100	0	0
2003	34	100	0	0
2004	36	100	0	0
2005	59	93,6	4	6,3
2006	64	100	0	0

La nascita di gemelli è risultata infatti saltuaria, solo in 5 anni si sono avuti parti bigemini con una punta di 4 (6,3 %) nel 2005. Al contrario di quanto molti allevatori credono, la gemellarità presenta una determinazione genetica assai bassa, mentre è più condizionata dagli aspetti manageriali, primo tra tutti l'alimentazione e quindi la condizione corporea al momento dell'estro. Da tali considerazioni appare evidente come sia assai improbabile ottenere parti gemellari frequenti da bovini che fanno della rusticità, e quindi della capacità di sopravvivere e produrre in situazioni ambientali decisamente frugali, la loro peculiarità più apprezzata.

L'età al primo parto è una statistica vitale di particolare importanza perché segna il momento in cui la bovina da solo capitale diventa anche fonte di reddito. Se nelle specie selvatiche questo viene determinato prevalentemente dall'ambiente e dal genotipo, negli animali di interesse zootecnico è decisa essenzialmente dall'allevatore in base alle sue condizioni manageriali. Nell'azienda oggetto di studio, in generale, l'età al primo parto si verifica nel corso del terzo anno di vita (tabella 6) e, se si considera la lunghezza della gravidanza di circa 290 d, si desume che le manze vengono presentate al toro verso la fine del secondo anno di età.

Tabella 6 - Età al primo parto in relazione all'anno di parto.

ETÀ AL PRIMO PARTO					
ANNO DI NASCITA	N	\bar{X}	DS	MIN	MAX
1992	8	1252,25	343,96	785	1749
1993	16	1114,88	163,64	952	1447
1994	10	1159,60	333,7	742	1736
1995	16	1261,81	198,35	968	1568
1996	18	1401,33	194,29	1085	1792
1997	3	1744,00	54,06	1702	1805
1998	11	1393,73	174,02	1160	1600
1999	7	1354,29	284,36	1033	1805
2000	7	1559,14	331,79	1055	1808
2001	6	1358,17	324,16	819	1754
2002	6	964,17	163,64	726	1108
2003	9	858,33	184,25	600	1172
2004	3	840,00	76,74	752	893

Come si osserva, considerando la deviazione standard ed i valori minimi e massimi, la variabilità è piuttosto consistente con coefficienti di variabilità (non tabulati) che spesso superano il 20%.

Piuttosto interessante risulta il trend dell'ultimo triennio in cui si osserva una drastica riduzione dell'età al primo parto che potrebbe indicare la volontà da parte dell'allevatore di gestire la mandria con criteri volti ad uno sfruttamento più intensivo delle bovine.

La lunghezza dell'interparto varia solitamente in funzione della capacità che hanno le vacche di recuperare una situazione corporea accettabile dopo il parto. I valori riportati in tabella 7, ordinati per anno di nascita, potrebbero essere testimonianza di un trend genetico legato alla selezione operata dall'allevatore; i dati risultano, però, inequivocabilmente alti, attestandosi quasi sempre su valori superiori ai 18 mesi. Nell'allevamento brado, infatti, un interparto di 12 mesi rappresenta quasi sempre la prassi. In effetti, in quasi tutti gli anni, si osservano dei valori minimi decisamente buoni, cui fanno però riscontro valori massimi assai elevati ad indicare una accentuata variabilità nella mandria. Volendo cercare una possibile motivazione di questa situazione si potrebbe ipotizzare che, come conseguenza della scarsa ereditabilità che questo carattere presenta, la selezione intrapresa dall'allevatore non dà risultati tangibili.

Tabella 7 - Lunghezza del periodo d'interparto in relazione all'anno di nascita

INTERPARTO (d)					
ANNO DI NASCITA	N	\bar{X}	DS	MIN	MAX
1981	5	696,00	271,08	401	1095
1982	11	611,36	169,20	333	802
1983	19	473,89	186,21	306	1011
1984	6	476,50	135,58	331	660
1985	6	475,83	144,32	325	750
1986	22	464,86	185,00	299	1064
1987	36	465,42	131,58	295	826
1988	37	569,03	186,30	322	1072
1989	35	477,40	163,59	237	910
1990	47	598,51	200,26	319	1056
1991	45	622,27	159,64	366	1081
1992	36	629,00	151,98	347	1068
1993	37	709,38	151,59	313	1073
1994	18	701,22	213,72	346	1070
1995	41	636,39	172,88	319	837
1996	69	591,56	194,54	313	1049
1997	3	609,00	202,84	375	735
1998	18	647,72	130,53	303	799
1999	6	716,5	66,62	652	844
2000	8	710,50	301,93	406	1253
2001	8	520,75	116,69	364	673
2002	7	628,14	91,96	467	717
2003	7	579,00	132,59	416	785

Peraltro, che l'allevatore attui una gestione della mandria volta ad eliminare le vacche con interparto eccessivo, è testimoniato in tabella 8 che mostra come tale parametro diminuisca in funzione dell'ordine di parto. Si passa, infatti, gradualmente dai 616 d del primo ordine di parto ai 525 delle uniche due bovine che hanno raggiunto il decimo ordine di parto. Da tale situazione appare quindi evidente che, contrariamente a quanto ipotizzato in precedenza, nell'allevamento viene posta particolare attenzione nell'eliminare le bovine che presentano un interparto piuttosto lungo.

Tabella 8 - Lunghezza del periodo di interparto in relazione dell'ordine di parto

INTERPARTO (d)					
ORDINE DI PARTO	N	\bar{X}	DS	MIN	MAX
2	159	616,22	188,30	237	1253
3	111	611,82	178,12	313	1033
4	93	579,86	183,44	297	1057
5	66	548,36	191,06	319	1068
6	48	570,31	198,11	295	1095
7	31	559,68	197,31	332	1081
8	14	490,14	132,59	313	718
9	3	553,33	128,00	471	702
10	2	525,50	310,42	306	745

Conclusioni

Dai dati riportati nel presente lavoro è possibile dedurre una situazione generale positiva nelle performance riproduttive delle vacche allevate presso l'Azienda Agraria Bramante.

I dati relativi ai diversi parametri demografici sono risultati coerenti con la razza allevata. Si nota infatti: prevalenza della monta naturale, buone performance riproduttive ed elevata vitalità dei nati anche se, in alcuni casi, si rilevano tassi di mortalità leggermente superiori a quelli medi della specie bovina.

Altri parametri negativi, quali l'abortività sono risultati poco più che saltuari, mentre la gemellarità ha presentato una frequenza conforme a quanto si registra solitamente nella razza.

Più problematico si presenta, invece, l'aspetto relativo alla lunghezza media dell'interparto: pur tenendo in debita considerazione l'ambiente in cui sono allevati gli animali e la rusticità della razza, i valori ottenuti appaiono troppo elevati denotando forse un'insufficiente integrazione alimentare delle fattrici. Una accurata gestione manageriale di tale aspetto potrebbe pertanto portare ad un rapido miglioramento della produttività aziendale.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento va all'Azienda Agricola Giuseppe Bramante (Rignano Garganico – FG) per aver consentito l'utilizzo dei propri dati aziendali. Un ulteriore senso di stima al Sig. Andrea Quaglia dell'ufficio centrale del Libro Genealogico di ANABIC per aver predisposto il dataset aziendale.

Bibliografia

- Bettini T. M., 1987, Elementi di scienza della produzione animale. Edagricole.
- SAS, 2000, SAS online doc, Version 8. SAS Institute Inc, Cary (NC).

ASPETTI QUANTI-QUALITATIVI DELLA CARNE DI VITELLONI PODOLICI PURI ED F₁ ALIMENTATI CON RAZIONI CONTENENTI BUCCETTA D'UVA

Marsico G. (1), Rasulo A. (1), Forcelli M.G. (1), Tarricone S. (1), Pinto F. (1),
Cagnetta P. (1), Basile G. (2)

(1) *Dip. Produzione Animale – Università degli Studi di Bari – Via Amendola 165/A,
70126 Bari*

(2) *Dottore Agronomo – Libero professionista*

Riassunto - La ricerca ha inteso valutare l'incidenza di mangimi contenenti buccetta d'uva sulle capacità produttive, sulla qualità delle carcasse, sulla composizione chimica delle carni e su quella acidica del grasso di vitelloni podolici puri ed F₁ (Marchigiana x Podolica e Chianina x Podolica). Dai risultati ottenuti è emerso che l'uso della buccetta d'uva riduce lo sforzo al taglio, limita gli I.M.G., incrementa i consumi alimentari, le perdite di cottura del L.D., peggiora l'I.C.A. e porta ad una più alta incidenza del taglio di spalla e ad una più bassa quantità di pancettone. Inoltre, le carni crude di tutti i soggetti alimentati con buccette risultano meno acquose, meno proteiche, più grasse e diventano più magre a seguito della cottura; il loro grasso presenta minori percentuali di C_{14:0}, di insaturi totali, di monoinsaturi e maggiore incidenza di C_{16:0}, di C_{18:0} e di saturi totali; con la cottura si ottiene un più alto contenuto di C_{18:2} e variazioni di altri acidi grassi. Inoltre, la ricerca ha posto in evidenza che le maggiori differenze circa le prestazioni produttive e gli aspetti quanti-qualitativi delle carcasse, delle carni e del grasso sono ascrivibili al genotipo ed alla interazione di questo con il tipo di alimentazione.

Parole chiave: Buccetta d'uva, Podolici, Carne, Acidi grassi.

Introduzione

A causa delle mutate esigenze socio-economiche delle popolazioni umane dei paesi tecnologicamente avanzati verificatesi negli ultimi decenni, sono variate le abitudini e le esigenze alimentari portando, così, ad una crescita dei consumi dei prodotti di origine animale. Infatti, negli ultimi 50 anni il consumo pro-capite totale di carne in Italia è passato da 20,5 kg nel 1955 a 91,1 kg nel 2002 (ISMEA, 2003), anche se nell'ultimo decennio il consumo medio delle carni di alcune specie, bovina in particolare, ha registrato a volte una contrazione e in altri casi una stasi spesso dovute agli eventi sanitari che si sono verificati (B.S.E., Blue Togue, ecc...). Inoltre, l'attuale consumatore, sempre più attento alla relazione fra nutrizione e salute, predilige sempre più alimenti, quindi carni, salubri, genuine, di qualità,

magre, povere in acidi grassi saturi come il C12:0, il C14:0 e forse il C16:0, capaci di incrementare il livello plasmatico del colesterolo (Hegsted et al., 1965; Grundy 1986; Bonamone e Grundy, 1988), ma ricche di acidi grassi insaturi e polinsaturi promotori della diminuzione del colesterolo L.D.L. (Mattson e Grundy, 1985) a cui sono collegati i rischi di cardiopatie. Rischi che possono essere ridotti con l'assunzione di acidi grassi polinsaturi della serie ω 3 (Connor, 1997), il cui ruolo nella prevenzione della trombosi, dell'arteriosclerosi e delle disfunzioni cardio-circolatorie è stato riportato anche da Barsottelli e Berra (1994), da Hornstra et al. (1975), da Vergoesen et al. (1980), da Carlier et al. (1991) e da Kinsella et al., 1990.

D'altronde, se il concetto di genuinità è collegato al minor intervento umano nei processi produttivi e/o all'uso di tecnologie ecocompatibili, identificabili con l'allevamento brado o semi-brado e l'impiego di genotipi animali autoctoni, quello di qualità è rappresentato dall'insieme di proprietà e caratteristiche capaci di soddisfare le esigenze "espresse o percepibili" (gusto, sapore, ecc.) e non (metaboliche), del consumatore.

Per quanto concerne il primo punto, i sistemi di allevamento ecocompatibili (di tipo estensivo, semi-estensivo o semi-intensivo) sono sempre più ipotizzabili in quelle aree interne a produttività marginale, che dal secondo dopoguerra in poi sono andate sempre più espandendosi nel nostro paese, in parte a causa dell'esodo delle popolazioni verso le zone più industrializzate, in parte per la concentrazione delle colture nelle aree pianeggianti e più fertili. Al momento tra i modi di utilizzo delle aree interne e/o marginali figura quello zootecnico, poiché può prevedere l'uso di sistemi di allevamento ecocompatibili (brado e/o semibrado) e genotipi animali autoctoni perfettamente adattati a questi ambienti, capaci di utilizzare al meglio le risorse alimentari del luogo, come appunto il bovino Podolico, le cui produzioni soddisferebbero le esigenze del consumatore e, per la sua rusticità, frugalità, resistenza alle malattie ed adattabilità ai diversi sistemi di allevamento, in particolare a quello brado e semi-brado, che gli consentono di utilizzare risorse vegetali e sottoprodotti da altri inutilizzabili, fornirebbe un valido contributo all'economia delle aree interne.

I prodotti di bovino Podolico sono stati oggetto di diversi studi, dai quali è emerso che gli animali allevati al pascolo sono capaci di fornire carni più tenere, dotate di una minore forza di coesione, di minore sforzo al taglio e di un basso potere di ritenzione idrica (Girolami et al., 1986), ma anche latte con migliore composizione chimica ed acidica (Marsico e coll., 1993; Di Trana e coll., 1993; Ragni e coll., 2006). Inoltre, le carni sottoposte a frollatura, migliorano tenerezza e flavour (sapore e odore) (Napolitano et al., 2001) e, se incrociata con altre razze, la Podolica è capace di migliorare alcuni aspetti produttivi e qualitativi delle carcasse (Ferrara et al., 1993).

Dalla letteratura da noi consultata non emergono studi sull'incidenza dell'impiego di sottoprodotti agro-industriali e della buccetta d'uva sugli aspetti quantitativi e qualitativi della produzione della carne di vitelloni Podolici puri o incrociati. Per

questo, tenuto conto della buona disponibilità di buccetta d'uva, ci è sembrato utile fornire un contributo di conoscenze relativamente all'incidenza dell'impiego nella dieta di questo sottoprodotto sugli aspetti quanti-qualitativi della carne di vitelloni di razza Podolica, allevati in purezza o come prodotto d'incrocio con la Marchigiana e la Chianina.

Materiali e metodi

All'uopo, sono stati utilizzati 24 vitelli maschi svezzati tra i 6 e gli 8 mesi di età, di cui 8 podolici, 8 "Chianina x Podolica" e 8 "Marchigiana x Podolica". Ogni genotipo è stato suddiviso in 2 gruppi di 4 animali ciascuno. Un gruppo di ogni genotipo (Testimone) è stato alimentato con una razione contenente un mangime privo di sottoprodotto (circa il 60% sulla s.s. della razione) e con fieno di prato stabile (circa il 40% sulla s.s. della razione), gli altri (Buccetta) sempre con fieno (circa il 40% sulla s.s. della razione) e con un mangime al 20% di buccetta (circa il 60% sulla s.s. della razione); le composizioni percentuale e chimica degli alimenti, quest'ultima eseguita secondo le norme A.S.P.A. (1980), sono riportate nelle Tab. 1 e 2. Durante la prova, tutti i soggetti sono stati pesati mensilmente, previo digiuno di 12 ore e giornalmente sono stati controllati i consumi alimentari al fine di valutare l'Indice di Conversione Alimentare (I.C.A.) e gli Incrementi Medi Giornalieri (I.M.G.) (Tab. 3). Gli animali sono stati macellati ad un peso vivo compreso fra i 4.5 q. e i 5 q. (16-18 mesi), quando un gruppo di 12 imprenditori del settore (4 macellai, 4 commercianti e 4 allevatori) li hanno giudicati maturi, in relazione alle esigenze aziendali e commerciali della zona, che di fatto ha portato ad una diversa età di abbattimento tra i genotipi considerati. Per i rilievi alla macellazione, sono stati seguiti gli usi e le consuetudini locali, avvicinandosi quanto più possibile alle indicazioni A.S.P.A. (1989).

Alla macellazione, previa stallatura di 24 ore, sono stati registrati i dati di rito riportati in Tab. 4. La carcassa è stata poi suddivisa in due mezzene e, dopo 24 ore di refrigerazione a 4°C, su quella destra è stata determinata la composizione in tagli (Tab. 5). Sui muscoli *longissimus dorsi* (LD) e *biceps femoris* (BF) di tutti i soggetti, sono stati valutati il pH₁ e gli indici L (luminosità), "a" indice del rosso e "b" indice del giallo (Sistema Hunter Lab). Inoltre, sull'LD è stata determinata la perdita di cottura, fatta in forno ad una temperatura di 180°C fino al raggiungimento di 75°C al cuore, e lo sforzo al taglio (WBS), sia sul cotto che sul crudo (Tab. 6). Su un campione rappresentativo dei muscoli provenienti da ogni animale è stata determinata la composizione chimica secondo le indicazioni ASPA (1980). Inoltre, su un'aliquota di grasso peri-intramuscolare estratto (Folch, 1957) da ogni campione di carne è stata determinata, previa metilazione, la composizione acidica mediante gas-cromatografia con colonne capillari di vetro silicato di 60 mt. con fase stazionaria in cianopropile al 100%. Per l'identificazione dei singoli acidi grassi, si è fatto riferimento al tempo di ritenzione dell'acido palmitico (C_{16:0}) e, nei casi dubbi, si è ricorso a standard. Per il calcolo si è usato il metodo della normalizzazione interna. Tutti i dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della

varianza con la procedura GLM (SAS, 1996), utilizzando il seguente modello statistico:

$$Y_{ijk} = M + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

dove:

M = media generale;

A_i = effetto genotipo (i: 1,3);

B_j = effetto dieta (j: 1,2);

E_{ijk} = errore casuale.

Le differenze fra le medie stimate sono state valutate con il “t” di Student.

Discussione dei risultati

Performance in vita

Il peso vivo finale sembra non dipendere dal tipo di alimentazione, mentre significative differenze ($P < 0,01$) si riscontrano fra i genotipi, con valori più alti nel Podolico, sia rispetto all’F₁ (Chianina x Podolica) che al “Marchigiana x Podolica”, (508,50 Kg vs 442,50 Kg e 436,00 Kg). Quando si considera l’interazione (Dieta x Genotipo) si osserva un peso significativamente maggiore ($P < 0,01$) a carico del Podolico del gruppo “Buccetta” (B) rispetto agli F₁ “Chianina x Podolica” e “Marchigiana x Podolica” sia nel gruppo B (527,00 Kg vs 452,50 Kg e 448,00 Kg) che in quello “Testimone” (T) (527,00 Kg vs 432,50 Kg e 424,00 Kg). Analogamente, nel gruppo T il Podolico registra un valore più alto rispetto agli F₁ “Chianina x Podolica” e F₁ “Marchigiana x Podolica” (490 Kg vs 432,50 Kg e 424,00 Kg), anche se con una minore significatività ($P < 0,05$) (Tab. 3). Tali differenze possono essere ascritte alla diversa durata del periodo di prova, determinato dalla valutazione del gruppo di imprenditori che, di fatto, ha portato ad un’età e ad un peso diversi per genotipo. Per quanto riguarda l’Incremento Medio Giornaliero, la razione porta a significative differenze ($P < 0,05$) fra i gruppi T e B (1129,50 g/d vs 1022,33 g/d), (Tab.3). Inoltre, in riferimento al genotipo, i migliori e significativi incrementi ($P < 0,01$) sono stati registrati dagli F₁ “Marchigiana x Podolica” rispetto al Podolico (1218,50 g/d vs 1070,75 g/d) ed all’F₁ “Chianina x Podolica” (1218,50 g/d vs 938,50 g/d) (Tab. 3). Quando si considera l’interazione (Dieta x Genotipo) si osserva che le migliori e significative risposte ($P < 0,01$) sono date dall’F₁ “Marchigiana x Podolica” del gruppo T, il quale registra superiori incrementi rispetto all’F₁ “Chianina x Podolica”, sia del gruppo T (1287,50 g/d vs 981,50 g/d) sia del gruppo B (1287,50 g/d vs 895,50 g/d). Ciò si verifica anche per l’F₁ “Marchigiana x Podolica” del gruppo B, che mostra differenze significative ($P < 0,01$), sia nei confronti del Podolico e dell’F₁ “Chianina x Podolica” dello stesso gruppo (1149,50 g/d vs 1022,00 g/d e 895,50 g/d), sia rispetto all’F₁ “Chianina x Podolica” del gruppo T (1149,50 g/d vs 981,50 g/d). Inoltre, nel gruppo T si riscontra una minore significatività ($P < 0,05$) fra l’F₁ “Marchigiana x Podolica” ed il Podolico (1287,50 g/d vs 1119,50 g/d), così come fra l’F₁ “Marchigiana x Podolica” del gruppo B ed il Podolico del gruppo T (1149,50 g/d vs 1119,50 g/d) (Tab. 3). Il miglior Indice di Conversione Alimentare ($P < 0,01$), a prescindere dal genotipo animale, si riscontra negli animali alimentati senza

sottoprodotto rispetto a quelli allevati con mangime a base di buccette (6,60 vs 8,00) (Tab. 3). Mentre, indipendentemente dal tipo di alimentazione, a presentare i significativi ($P<0,05$) e più favorevoli I.C.A. sono gli F_1 “Marchigiana x Podolica” rispetto agli altri (6,94 vs 7,37 e 7,54) (Tab. 3). Allorchè si considera l’interazione (Dieta x Genotipo) emerge che l’I.C.A. dell’ F_1 “Chianina x Podolica”, alimentato con buccette, è significativamente maggiore ($P<0,01$) rispetto a quello dei genotipi del gruppo T (8,62 vs 6,22, 6,53 e 7,00). Il Podolico del gruppo B, invece, presenta valori significativamente più alti ($P<0,01$) rispetto agli F_1 del gruppo T (8,13 vs 6,22 e 6,53) (Tab. 3). Sempre significative, ma in minor misura ($P<0,05$), risultano invece le differenze fra gli F_1 del gruppo B (8,62 vs 7,40), fra l’ F_1 “Chianina x Podolica” e il Podolico del gruppo T (6,22 vs 7,00) e, infine, fra l’ F_1 “Marchigiana x Podolica” del gruppo B e l’ F_1 “Chianina x Podolica” del gruppo T (7,40 vs 6,22) (Tab. 3).

Rilievi alla macellazione

In generale, il tipo di alimentazione sembra non incidere sui rilievi di macellazione, mentre si riscontrano differenze significative ($P<0,01$) ascrivibili al genotipo (Tab. 4). Più precisamente l’ F_1 “Marchigiana x Podolica” presenta, rispetto agli altri, una maggiore ($P<0,01$) incidenza del fegato (1,52% vs 1,30% e 1,06%), della corata (1,74% vs 1,67% e 1,51%) ed una inferiore ($P<0,01$) resa di macellazione sia rispetto al Podolico che all’ F_1 “Chianina x Podolica” (57,56% vs 58,16% e 61,43%) (Tab. 4). Quando consideriamo l’interazione (Dieta x Genotipo) a carico dei parametri considerati, si riscontrano significative differenze ($P<0,01$ e/o $P<0,05$), sia negli animali alimentati con buccette che negli altri, in cui risalta la maggiore resa dell’ F_1 “Chianina x Podolica” del gruppo B (62,15%).

Rilievi alla sezionatura

In generale, la composizione percentuale in tagli della mezzena risente poco del tipo di razione se non a livello del taglio di collo, di panettone, di lombata e di spalla (Tab. 5). Infatti, la mezzena dei vitelloni alimentati con mangime contenente buccetta d’uva, rispetto a quella degli altri è caratterizzata da minori e significative ($P<0,01$ e/o $P<0,05$) percentuali di collo (7,08% vs 7,63%) e di pancettone (6,06% vs 7,32%) e da una maggiore incidenza ($P<0,05$) del taglio di lombata (7,55% vs 6,09%) e di spalla (11,25% vs 10,22%). A prescindere dal tipo di razione, la mezzena dei vitelloni Podolici rispetto agli F_1 presenta una maggiore ($P<0,01$ e/o $P<0,05$) incidenza del taglio di collo (8,26% vs 6,99% e 6,83%), di pancettone (7,22% vs 6,96% e 5,89%), e di punta di petto (10,16% vs 8,26% e 5,42%) ed una minore ($P<0,01$ e/o $P<0,05$) incidenza di avambraccio (3,54%), di bistecche 7-13 (5,73% vs 6,38% e 6,46%) e di lombata (5,54% vs 7,73% e 7,20%); inoltre presenta, insieme all’ F_1 “Marchigiana x Podolica”, una maggiore ($P<0,01$) percentuale di bistecche 1-6 (7,27% e 7,93% vs 5,42%) ed una minore incidenza della coscia (28,10% e 28,09% vs 31,66%). Allorchè si considera l’interazione tra Genotipo e Dieta, si nota che la maggior parte delle variazioni di composizione

percentuale in tagli della mezzena sono ascrivibili al genotipo animale. Infatti, tra gli animali alimentati con le buccette, i vitelloni Podolici puri e l'F₁ "Marchigiana x Podolica" presentano una maggiore e significativa (P<0,01) incidenza del taglio di collo (6,99% e 7,38% vs 6,88%), di bistecche 1-6 (8,23% e 8,04% vs 4,42%), di pancettone (6,06% e 6,63% vs 5,51%) e una minore percentuale di coscio (27,42% e 27,66% vs 31,86%), andamento questo quasi sempre confermato negli animali alimentati con razioni prive di sottoprodotto, ove in generale risalta sempre una maggiore incidenza del taglio di coscio ed una minore percentuale di bistecche 1-6, con differenze la cui validità statistica varia tra il 95% e il 99%.

Parametri fisici

In generale, i parametri fisici, pH ed indici colorimetrici, dei muscoli controllati LD e BF, sembrano non risentire del tipo di alimentazione, mentre lo sforzo al taglio dell'LD crudo e cotto dei soggetti allevati con razioni prive di buccette risulta significativamente (P<0,01) superiore (6,18 Kg/cm² vs 5,82 Kg/cm² per il crudo, 6,82 Kg/cm² vs 6,47 Kg/cm² per il cotto). Tali soggetti sono caratterizzati, per l'LD, anche da una minore e significativa (P<0,01) perdita di cottura (21,65% vs 28,21%) (Tab.6). Indipendente dal tipo di razione, l'LD dei Podolici è caratterizzato da un inferiore indice "b" (6,58 vs 7,83 e 8,24), da un minore sforzo al taglio sul cotto (5,73 vs 7,10 e 7,10) ed il loro BF presenta anche il più basso pH (6,11 vs 6,46 e 6,20), mentre la minore perdita di cottura (P<0,01) viene registrata dagli F₁ "Chianina x Podolica" (21,05% vs 27,41% e 26,33%). In generale, dalla Tab. 6 emerge inoltre che alcuni parametri fisici dei muscoli considerati, rivenienti dalle carcasse di ciascun genotipo, sembrano dipendere dal tipo di alimentazione che gli animali hanno ricevuto in vita, anche se la significatività delle differenze osservate nell'ambito della dieta e del genotipo variano fra il 95% ed il 99%. Più in particolare, si osserva che i Podolici alimentati con buccetta, rispetto agli altri dello stesso gruppo, presentano un BF con il più basso indice "a" (8,58 vs 11,88 e 12,91) e un LD con la maggiore perdita di cottura (33,95%), che risulta in assoluto la più bassa in quelli del gruppo Testimone (18,70%).

Composizione chimica della carne

Dalla Tab. 7 risulta che l'impiego delle buccette d'uva, indipendentemente dal genotipo animale, riduce significativamente (P<0,01 e/o P<0,05) l'umidità delle carni (66,06% vs 68,43%), il contenuto proteico (22,09% vs 22,94%), incrementa la loro adiposità (9,79% vs 7,10%) e la percentuale di indeterminati. Dalla stessa Tabella si evince inoltre che i vitelloni "Chianina x Podolica", rispetto agli altri, hanno carni sicuramente (P<0,01) più acquose (72,16% vs 64,38% e 65,20%), più proteiche (23,07% vs 22,86% e 21,61%) e meno grasse (3,33% vs 11,14% e 10,87%). Ovviamente, ogni genotipo reagisce diversamente al tipo di razione. Infatti, l'uso delle buccette nelle carni podoliche riduce il contenuto di acqua ed incrementa quello lipidico, mentre nelle carni degli F₁ "Chianina x Podolica" l'impiego del sottoprodotto, pur incrementando il contenuto in grasso (3,79% vs

2,87%) non porta ad altre variazioni; questo potrebbe essere dovuto al fatto che il peso di macellazione di questi vitelloni non è ancora ottimale, poichè non hanno completato il loro accrescimento e che dovrebbero essere macellati ad un peso superiore. Anche la composizione chimica delle carni cotte (Tab. 8) sembra dipendere maggiormente dalla razza rispetto al tipo di alimentazione; questa, infatti, incide sul contenuto acquoso, superiore nei soggetti alimentati con buccetta (61,82% vs 58,57%) e su quello lipidico, maggiore in quello del gruppo Testimone (9,25% vs 5,84%). Le carni cotte degli F₁ “Chianina x Podolica” sono caratterizzate da una superiore percentuale di acqua, di ceneri e da un minore contenuto in grassi. Inoltre, quasi tutti i parametri considerati presentano valide (P<0,01 e/o P<0,05) differenze dipendenti dall’interazione (Dieta x Genotipo animale). Infatti, tra gli animali del gruppo Testimone, sono gli F₁ “Chianina x Podolica” a presentare le carni significativamente (P<0,01) più magre (4,02%), i Podolici quelle con la maggiore (P<0,01) percentuale di proteine (34,00%) e gli F₁ “Marchigiana x Podolica” le più (P<0,01) grasse (13,92%).

Composizione acidica del grasso

A carico della distribuzione percentuale in acidi grassi del grasso delle carni crude (Tab. 9), il tipo di dieta, nonostante le variazioni osservate, sembra incidere in modo statisticamente valido solo su alcuni parametri. Infatti, l’impiego della buccetta d’uva nel grasso delle carni porta a minori (P<0,01 e/o P<0,05) percentuali di C_{14:0} (4,87% vs 5,22%), di C_{17:0}, di insaturi totali (49,95% vs 51,02%), di monoinsaturi (44,85% vs 45,98%), di ω3 totali (0,10% vs 0,13%) ed a superiori concentrazioni di C_{16:0} (27,65% vs 27,02%), di C_{18:0} (14,92% vs 13,85%), di saturi totali (50,05% vs 48,98%) e ad un superiore indice di trombogenicità (1,92% vs 1,81%). Per quanto riguarda il genotipo animale, a prescindere dal tipo di razione somministrata, si nota che il grasso delle carni degli F₁ “Chianina x Podolica” rispetto a quello degli altri è caratterizzato da maggiori (P<0,01 e/o P<0,05) livelli di C_{16:0} (29,30% vs 26,48% e 26,23%), di C_{17:0} (1,30% vs 1,25% e 1,05%), di C_{18:0} (15,23% vs 15,00% e 12,93%), di C_{18:2ω6} (3,73% vs 3,55% e 3,28%), di saturi totali (51,90% vs 48,83% e 47,83%), da più elevato Indice di Aterogenicità (1,02% vs 0,96% e 0,91%) e di Trombogenicità (2,05% vs 1,82% e 1,72%) e da un minore (P<0,01) livello di monoinsaturi totali (42,80% vs 46,58% e 46,88%). Inoltre, gli stessi F₁, insieme al Podolico presentano, rispetto agli F₁ “Marchigiana x Podolica”, maggiori (P<0,01) livelli di C_{18:3ω3} (0,08% e 0,08% vs 0,03%), di C_{18:3ω6} (0,13% e 0,13% vs 0,08%), di C_{20:2ω6} (0,28% e 0,33% vs 0,18%), di polinsaturi totali (5,30% e 5,30% vs 4,60%) e di ω6 totali (4,53% e 4,33% vs 3,65%) e minori (P<0,05) valori di C_{22:5ω3} (0,05% e 0,05% vs 0,08%). Il grasso dei Podolici differisce da quello degli altri genotipi per le maggiori (P<0,01 e/o P<0,05) concentrazioni di C_{14:0} (5,68% vs 4,80% e 4,65%), di C_{14:1} (1,55% vs 0,93% e 0,85%), di C_{15:1} (0,33% vs 0,28% e 0,25%), di C_{16:1} (4,63% vs 4,18% e 3,23%), di C_{18:1ω7} (1,68% vs 1,33% e 1,25%) e di insaturi totali (52,18% vs 51,18% e 48,10%), e per le minori (P<0,01 e/o P<0,05) incidenze di C_{18:0} (12,93% vs

15,00% e 15,23%) e di saturi totali (47,83% vs 48,83% e 51,90%). Allorquando si considera l'interazione dieta x genotipo si notano, nell'ambito del genotipo, variazioni ascrivibili al tipo di alimentazione. Infatti, l'uso delle buccette, nel grasso dei Podolici, rispetto a quello del gruppo Testimone, porta sicuramente ($P < 0,01$ e/o $P < 0,05$) a maggiori percentuali di $C_{10:0}$ (0,25% vs 0,15%), di $C_{16:0}$ (27,00% vs 25,45%), di $C_{14:1}$ (1,75% vs 1,35%), di $C_{16:1}$ (5,85% vs 3,40%), di $C_{17:1}$ (1,40% vs 0,80%), di insaturi totali (52,70% vs 51,65%), di monoinsaturi (48,00% vs 45,75%) ed a più bassi livelli di saturi totali (47,30% vs 48,35%), di $C_{18:2\omega6}$ (2,70% vs 4,40%), di $\omega3$ (0,10% vs 0,15%) e a più alte ($P < 0,05$) percentuali di $C_{18:2CLA}$ (acido linoleico coniugato) (1,05% vs 0,65%). A parte queste variazioni, tale acido grasso, le cui funzioni sono state riportate da Berry E.M. e Hirch J. (1986), Riemersma R.A. e coll. (1986), Hogan J.P. e Hogan R.M. (1976), Oster P. e coll. (1979), Weir W.C. e coll. (1974), è presente in tutti i genotipi testati e non risente nè del genotipo, nè del tipo di alimentazione. Mentre il grasso degli altri F_1 , in genere, sembra risentire meno del tipo di razione. Da tale andamento si discostano gli F_1 (Chianina x Podolica) del gruppo Testimone il cui grasso, rispetto a quelli allevati con buccette, contiene inferiori ($P < 0,01$) concentrazioni di saturi totali (49,80% vs 54,00%) e minori ($P < 0,01$ e/o $P < 0,05$) quantità di $C_{18:0}$ (13,50% vs 16,95%). Lo stesso presenta superiori percentuali di insaturi (50,20% vs 46,00%) e di monoinsaturi (45,00% vs 40,60%). Per quanto concerne, invece, la distribuzione percentuale degli acidi grassi del grasso delle carni cotte (Tab. 10) si osserva che, indipendentemente dal genotipo animale, l'uso della buccetta, pur non incidendo in modo significativo sulle percentuali di saturi ed insaturi totali, oltre a favorire sicuramente ($P < 0,01$ e/o $P < 0,05$) l'accumulo di $C_{18:0}$ (16,58% vs 15,18%), di $C_{18:2\omega6}$ (3,50% vs 2,28%), dell'acido linoleico coniugato (CLA) (0,65% vs 0,33%) e di $C_{16:1}$ (3,57% vs 3,12%), riduce le concentrazioni del $C_{15:0}$ (0,55% vs 0,82%), del $C_{18:1\omega9}$ (39,90% vs 40,80%), del $C_{18:1\omega7}$ (1,17% vs 2,08%), del $C_{18:3\omega6}$ (0,08% vs 0,18%), del $C_{22:5\omega3}$ (0,03% vs 0,12%) e degli $\omega3$ totali (0,18% vs 0,28%). Per quanto concerne il genotipo animale, indipendentemente dal tipo di razione che gli animali hanno ricevuto in vita, si nota che il grasso delle carni degli F_1 "Chianina x Podolica" rispetto a quello degli altri è caratterizzato da maggiori ($P < 0,01$) livelli di $C_{16:0}$ (26,95% vs 26,93% e 26,68%), di $C_{18:2\omega6}$ (3,88% vs 1,80% e 3,00%), di $C_{18:3\omega3}$ (0,23% vs 0,13% e 0,13%), di $C_{18:3\omega6}$ (0,20% vs 0,10% e 0,10%), di polinsaturi totali (5,23% vs 2,73% e 4,20%), mentre quello degli F_1 "Marchigiana x Podolica" è dotato di maggiori ($P < 0,01$ e/o $P < 0,05$) livelli di $C_{18:0}$ (16,95% vs 15,43% e 15,28%), di saturi totali (49,10% vs 48,98% e 46,70%), di $C_{22:5\omega3}$ (0,15% vs 0,03% e 0,05%), e da minori percentuali di $\omega6$ totali (2,23% vs 3,40% e 4,35%), di polinsaturi totali (2,73% vs 5,23% e 4,20%) e di $C_{18:2CLA}$ (0,23% vs 0,63% e 0,63%). Il grasso dei Podolici presenta minori ($P < 0,05$) quantità di saturi (46,70% vs 49,10% e 48,98%) e maggiori concentrazioni di insaturi (53,30% vs 51,03% e 50,90%) e di monoinsaturi (49,10% vs 48,18% e 45,80%, con $P < 0,01$). Alle significative variazioni precedentemente considerate ed ascrivibili al solo genotipo

e/o tipo di alimentazione, quando si considera la loro interazione, si osserva che il grasso dei Podolici e quello degli F₁ “Marchigiana x Podolica” alimentati con buccette, rispetto a quello dei genotipi del gruppo Testimone, anche se con diverso livello di validità statistica ($P < 0,01$ e/o $P < 0,05$), è più povero in C_{16:0} (25,05% e 25,35%), di C_{14:0} (3,60% e 3,35%) e più ricco di C_{18:0} (15,65% e 17,90%). Quanto testè osservato, insieme ai diversi livelli di significatività riportati in Tab. 10, pone in evidenza una sicura dipendenza della distribuzione acidica del grasso dal tipo di razione e dal genotipo animale, poichè ciascuno di questi reagisce diversamente agli stimoli alimentari.

Conclusioni

Dalla ricerca emerge che l'uso della buccetta d'uva nella razione per vitelloni, pur non incidendo significativamente sui pesi vivi finali, sui rilievi di macellazione, sui parametri colorimetrici e sul pH delle carni, riduce il loro sforzo al taglio, limita gli I.M.G., incrementa i consumi alimentari e le perdite di cottura del L.D., peggiora l'I.C.A. e porta a mezzene con una più alta incidenza del taglio di spalla ed una più bassa quantità di pancettone. Tale sottoprodotto, porta a carni crude meno acquose, meno proteiche e più grasse che diventano più magre a seguito della cottura. Dalla ricerca risalta anche che l'impiego delle buccette d'uva, nel grasso delle carni crude, riduce le percentuali di C_{14:0}, di insaturi totali, di monoinsaturi ed incrementa quelle del C_{16:0}, del C_{18:0} e dei saturi totali, che, a seguito di cottura, raggiunge il più alto contenuto di C_{18:2} (acido linoleico coniugato) ed altre variazioni di altri acidi grassi. Inoltre, le maggiori differenze circa le prestazioni produttive e quantitativo-qualitative delle carcasse delle carni e del grasso sono ascrivibili al genotipo o alla interazione di questo con il tipo di alimentazione. Infatti, la mezzena del Podolico, oltre ad essere caratterizzata da una maggiore incidenza del taglio di collo, di pancettone, di punta di petto, e da una minore percentuale di lombata e di coscio (quest'ultima paragonabile a quella dell'F₁ “Marchigiana x Podolica”), è dotata di muscoli crudi più acidi, meno resistenti al taglio, più poveri di proteina, più ricchi di indeterminati e, insieme all'F₁ Marchigiana x Podolica”, con un più elevato contenuto di grasso e con una maggiore perdita di cottura. Inoltre, il grasso estratto dalle carni crude di questo genotipo è caratterizzato da superiori concentrazioni di C_{12:0}, di C_{14:0}, di C_{14:1}, di C_{16:1}, di C_{18:2₀₆} insieme all'F₁ “Chianina x Podolica”, di insaturi totali, di polinsaturi, di monoinsaturi, e da inferiori quantità di C_{18:0} e di saturi totali. Infine, il grasso di tali animali, allevati con razioni contenenti sottoprodotto, si impoverisce di C_{18:0}, di C_{20:0}, di saturi totali, di C_{18:1₀₉}, e si arricchisce di C_{16:0}, di C_{16:1}, di insaturi totali e di C_{18:CLA}, la cui concentrazione aumenta nelle carni cotte. Concludendo, nonostante le utili indicazioni scaturite dalla presente ricerca, è sicuramente necessario approfondire ulteriormente gli studi per meglio caratterizzare la carne di questi animali.

Bibliografia

- ASPA (1980). Valutazione degli alimenti di interesse zootecnico. I. Analisi chimica. *Zoot. Nutr. Anim.*, vol. 6, 19-34.
- A.S.P.A. (1989) – Metodologie relative alla macellazione, alla valutazione e dissezione della carcassa di animali di interesse zootecnico. *Agr. Ric.*, 11, (99-100), 39-45.
- BARSOTTELLI E., BERRA B. (1994) – Acidi grassi $\omega 3$ e prevenzione della trombosi e della aterosclerosi. Valutazione critica dei dati della letteratura. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 71, 11-25.
- BERRY E.M., HIRCH J. (1986) – Does linoleic acid influence blood pressure? *American Journal of Clin. Nutr.*, 44, 336-340.
- BONAMONE A., GRUNDY S.M. (1988) – Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Engl. J. Med.* 318:1244-1248.
- CARLIER H., BERNARD A., CASELLI C. (1991) – Digest and absorption of polyunsaturated fatty acids. *Reprod. Nutr. Dev.*, 31, 475.
- CONNOR W.E. (1997) – Do the $\omega 3$ fatty acids from fish prevent deaths from cardiovascular disease?. *The American of Medicine*, 318, 19, 1244-1248.
- DI TRANA A., MARSICO G., MUSCIO A. (1993). - “Variazioni quantitative del latte di bovine di razza “Podolica”: influenza del sottosistema di allevamento”. *Atti XXVIII Simposio Internazionale di Zootecnia*, Milano, 14 maggio, 269-276.
- FERRARA L., GIGLI S., DI LUCCIA A., CARRETTA A., MANNITI F., POLIMENO F., FIUORETTI M., DI GIACOMO A. (1993). Efficienza produttiva in vitelloni podolici bufalini, frisoni e romagnoli alimentati con due diversi livelli nutritivi. *Agricoltura e Ricerca* 144, 9 – 28.
- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G.H. (1957). Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226-479.
- GIROLAMI A., FERRARA L., MATASSINO D. (1986). La produzione di carne del bovino Podolico. III. Caratteristiche mierologiche. I° Conv. Allev. Bov. Podol. Mezzog. Ital., Acerno (SA), 6-7-8 giugno.
- GRUNDY S.M. (1986) – Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *N. Engl. J. Med.*, 314:745-748.
- HEGSTED D.M., MC CANDY R.B., MEYERS M.L., STARE F.J. (1965) – Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 17, 218-295.
- HOGAN J.P., HOGAN R.M. (1976) – The evaluation of formaldehyde-treated sunflower seed-casein supplement as a source of linoleic acid for ruminant lipids. *Austr. J. Agric. Res.*, 27, 129-138.
- HORNSTRA G. & LUSSENBURG R.N. (1975) – Relationship between the type of dietary fatty acid and arterial thrombosis tendency in rats. *Atherosclerosis* 22, 499-516.
- ISMEA (2003) - <http://www.ismea.it>.

- KINSELLA J.E., LOKESH B., STONE R.A. (1990) - Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possibile mechanisms. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52, 1-28.
- MARSICO G., DI TRANA A., ALBA V., TATEO A., PINTO F., CAPUTI JAMBRENGHI A.M., VONGHIA G., (2002). Influenza del sistema di allevamento sulle caratteristiche quantitative e qualitative del latte di bovine Podoliche. *Riv. Terra Pugliese*, 50, (1), 11 – 16.
- MARSICO G., DI TRANA A., LANOTTE E., MUSCIO A. (1993). - “L’influenza del sottosistema di allevamento sulla composizione chimica e su quella acidica del grasso di latte di bovine “Podoliche”. *Archivio Veterinario Italiano*, (44), 3, 108-117.
- MATTSON F.H. & GRUNDY S.M. (1985) – Comparison of dietary saturated, monosaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lip. Research*, 26, 194-202.
- NAPOLITANO F., CARLUCCIA A., BRAGHIERI A., CIFUNI G.F., RIVIEZZI A.M., MONTELEONE E., GIROLAMI A. (2001). Influenza della lunghezza del periodo di frollatura su alcune caratteristiche sensoriali della carne di vitelloni podolici. *Zoot. Nutr. Anim.*, 27: 85 – 89.
- RAGNI M., COCCA C., MELODIA L., DI TURI L., MARSICO G., VICENTI A. (2006) – Caratteristiche qualitative e dietetiche delle carni di vitelloni podolici in relazione a diversi sistemi di allevamento. Atti 1° Congresso Nazionale ARNA, Bologna, 23-25 marzo.
- RIEMERSMA R.A., WOOD D.A., BUTLER S., ELTON R.A., OLIVER M., SOLO M., NIKARI T., VARTIANEN E., PUSKA P., GEV F., RUBBA P., MANCINI M., FIDANZA F. (1986) – Linoleic acid content in adipose tissue and coronary heart disease. *British Medical Journal*, 292, 1423-1427.
- OSTER P., ARAB L., SCHELLENBERY B., HENEK C.C., MORDASINI R, SCHLIERF G. (1979) – Blood pressure and adipose tissue linoleic acid. *Experimental Medicine*, Berlin, 175, 287.
- VERGOESEN A.J., DEDECKER E.A.M., Tenhoor F., Hornstra G. (1980) – Cardiovascular effects of linoleic acid. *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, 4,5, 13-25.
- WEIR W.C., YANG Y., DUNKLEY W.L. (1974) – Changes in linoleic acid content of lamb fat by feeding protected lipids. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 33, 107 (Abstr.).

Tab. 1 - Composizione percentuale dei mangimi (Kg/Q.le)

	0% Buccette	20% Buccette
Farina di soja (45%)	14	17
Mais	22	20
Avena	12	6
Orzo	19	19
Erba medica	16,5	3,5
Cruschello	10	8
Melasso	1,7	1,7
Buccette d'uva	0	20
Olio di soja	1	0
Olio di vinacciolo	0	1
Carbon. di calcio	1,8	1,8
Fosfato bicalcico	1	1
Cloruro di sodio	0,5	0,5
Integrat. min-vit.	0,5	0,5

Tab. 2 - Composizione chimica degli alimenti (% s.s.)

	Buccette d'uva	Mangime		Fieno
		0% Bucc.	20% Bucc.	
Umidità	3,00	8,20	8,80	14,77
Proteina	12,76	17,06	17,03	8,25
Grasso	7,73	4,73	4,92	1,18
Ceneri	9,13	8,21	8,44	7,05
Fibra	23,68	9,87	10,98	34,59
Estratt. Inazot.	46,70	60,13	58,63	48,93
UFC/Kg	0.90	0,90	0,92	0,41

Tab. 4 - Rilievi alla macellazione (% sul peso vivo)

	Dieta		Genotipo				Dieta x Genotipo				DSE	
	Buccette	Testimone	Ch.xP od.	Mar.xPo d.	Podolico	Buccette		Testimone				
						Ch.xPod.	Mar.xPo d.	Ch.xPod.	Mar.xPo d.			
N° Soggetti	12	12	8	8	8	4	4	4	4	4		
Peso vivo (Kg)	475,83	448,83	442,50 B	436,00 B	508,50 A	452,50 B 1,34	448,00 B	527,00 A	432,50 Bb	424,00 Bb	490,00 a	33,471
Fegato	1,33	1,25	1,30 B 1,51	1,52 A	1,06 C	ABb	1,49 A	1,15 BCc	1,25 B	1,55 Aa	0,96 Cd	0,109
Corata	1,67	1,61	Bb	1,74 A	1,67 a	1,64 A	1,72 A	1,65 A	1,39 B	1,76 A	1,69 A	0,118
Testa+lingua	3,24	3,26	3,32 a 61,43	3,25	3,17 b	3,40 a	3,16 b	3,16 b	3,25	3,35	3,18 b	0,131
Resa lorda	59,24	58,86	A	57,56 B	58,16 B	62,15 A	57,22 B	58,36 Bb	60,71 Aa	57,91 B	57,96 Bb	1,372

A, B, C: P<0.01; a, b, c, d: P<0.05

Tab. 5 - Rilievi alla sezionatura (% sul peso mezzena ricostituita)

	Dieta		Genotipo				Dieta x Genotipo				DSE (GL= 18)	
	Buccette	Testimone	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	Buccette		Testimone				
						Ch.xPod.	Mar.xPod.	Ch.xPod.	Mar.xPod.			
N° Soggetti	12	12	8	8	8	4	4	4	4	4		
Peso mezzena ricost. (kg)	137,56 a	127,93 b	131,82	125,01 B	141,40 A	137,29 a	128,00 B	147,39 A	126,36 B	122,01 Bb	135,42	9,351
Collo	7,08 b	7,63 a	6,83 B	6,99 B	8,26 A	6,88 B	7,38 B	6,99 B	6,77 B	6,60 B	9,53 A	0,594
Bistecche 1-6 (v. dorsali)	6,89	6,86	5,42 B	7,93 A	7,27 A	4,42 C	8,04 A	8,23 A	6,43 Bb	7,82 aB	6,32 Bb	0,765
Avambraccio	3,42	3,92	4,77 A	2,70 Bb	3,54 aB	3,68 B	2,65 Bb	3,92 aB	5,86 A	2,75 Bb	3,15 B	0,737
Bistecche 7-13 (v. dorsali)	6,16	6,22	6,46 A	6,38 a	5,73 Bb	6,23 A	5,92 b	6,33 A	6,70 Aa	6,83 Aa	5,13 Bc	0,507
Lombata	7,55 a	6,09 b	7,20 a	7,73 A	5,54 Bb	8,60 Aa	8,58 Aa	5,49 B	5,80 b	6,89	5,59 b	1,496
Pancettone	6,06 B	7,32 A	5,89 Bb	6,96 a	7,22 A	5,51 B	6,63 B	6,06 Bb	6,28 B	7,29 Aa	8,39 A	0,815
Gamba	3,35	3,35	3,44	3,15	3,47	3,61 a	3,04 b	3,38	3,27	3,26	3,53	0,347
Coscia	28,98	29,59	31,66 A	28,09 B	28,10 B	31,86 Aa	27,66 C	27,42 C	31,46 AaB	28,53 BbC	28,78 b	1,518
Spalla	11,25 a	10,22 b	10,20	11,15	10,85	11,56 A	11,19 A	10,10 A	8,85 Bb	11,12 A	10,69 a	0,965
Petto	6,16	6,27	7,18	5,57	6,42	6,50	5,50 b	6,46	7,86 a	5,65	6,37	1,540
Punta di petto	8,18	7,72	5,42 C	8,26 B	10,16 A	5,74 C	8,29 Bb	10,50 A	5,10 C	8,24 Bc	9,81 aB	0,794

A, B, C: P<0.01; a, b, c: P<0.05

Tab. 6 - Parametri fisici

	Dieta		Genotipo			Dieta x Genotipo				DSE		
	Buccette		Testimone			Buccette		Testimone				
N° Campioni	12	12	8	8	8	4	4	4	4	4		
	Buccette		Ch.xPod.Mar.xPod.Podolico			Ch.xPod.Mar.xPod.PodolicoCh.xPod.Mar.xPod.Podolico				(GL= 18)		
LD: L	31,12	29,08	30,50	30,50	29,30	32,42 a	32,31 a	28,65 b	28,59 b	28,70 b	29,95	2,404
a	10,45	10,81	10,45	11,61	9,82	11,40	10,00	9,95	9,50 b	13,23 a	9,69 b	2,302
b	7,44	7,65	8,23 a	7,83 a	6,58 b	8,35 a	7,20	6,77	8,10 a	8,45 a	6,39 b	1,146
BF: L	30,43	31,39	31,61	31,19	29,93	31,99	30,83	28,48	31,23	31,56	31,38	2,467
a	11,12	10,22	10,99	11,27	9,76	11,88 a	12,91 Aa	8,58 Bb	10,11	9,63 b	10,94	2,039
b	6,99	6,99	7,41	6,93	6,63	7,53 a	7,56 a	5,87 b	7,28 a	6,29 b	7,39 a	0,844
pH1 : LD	6,55	6,43	6,49	6,54	6,45	6,49	6,59	6,58	6,49	6,48	6,33	0,284
BF	6,31	6,20	6,20 b	6,46 Aa	6,11 B	6,19 b	6,55 Aa	6,20 b	6,21 b	6,37 a	6,02 Bb	0,231
LD: WBS crudo	5,82 B	6,18 A	6,55 A	5,58 C	5,88 B	5,60 C	5,60 C	6,25 B	7,50 A	5,55 C	5,50 C	0,153
WBS cotto	6,47 B	6,82 A	7,10 A	7,10 A	5,73 B	6,90 Bb	6,75 B	5,75 C	7,30 Aa	7,45 A	5,70 C	0,204
Perdita cottura	28,21 A	21,65 B	21,05 B	27,41 A	26,33 A	22,01 aD	28,66 B	33,95 A	20,09 bD	26,17 C	18,70 E	1,148

A, B, C, D, E: P<0.01; a, b: P<0.05

Tab. 7 - Composizione chimica delle carni crude (%)

N° Campioni	Dieta		Genotipo		Dieta x Genotipo				DSE			
	12	12	8	8	Testimone		Buccette					
					4	4	4	4				
	Testimone	Buccette	Chian.xPod.	March.xPod.	Podolico	Chian.xPod.	March.xPod.	Podolico	(GL= 18)			
Umidità	68,43 A	66,06 B	72,16 A	64,38 B	65,20 B	72,28 Aa	62,67 C	70,35 Ab	72,04 Aa	66,10 B	60,05 D	0,977
Proteine	22,94 a	22,09 b	23,07 A	22,86 a	21,61 Bb	23,40 a	23,83 Aa	21,60 Bb	22,75	21,90 b	21,62 Bb	0,991
Grassi	7,10 B	9,79 A	3,33 B	11,14 A	10,87 A	2,87 D	12,21 Ba	6,23 aC	3,79 bC	10,07 Bb	15,51 A	1,386
Ceneri	0,94	0,98	1,05 a	0,94	0,89 b	1,06 a	0,92	0,85 b	1,04 a	0,97	0,93	0,110
Indeterminat	0,59 b	1,09 a	0,40 B	0,68 b	1,44 Aa	0,40 B	0,39 B	0,98 b	0,40 B	0,97 b	1,90 Aa	0,530

A, B, C, D; P<0.01; a, b; P<0.05

Tab. 8 - Composizione chimica delle carni cotte (%)

N° Campioni	Dieta		Genotipo		Dieta x Genotipo				DSE			
	12	12	8	8	Testimone		Buccette					
					4	4	4	4				
	Testimone	Buccette	Chian.xPod.	March.xPod.	Podolico	Chian.xPod.	March.xPod.	Podolico	(GL= 18)			
Umidità	58,57 B	61,82 A	63,95 A	58,08 B	58,56 B	63,16 B	59,08 aC	53,48 D	64,75 A	57,08 bC	63,65 A	1,164
Proteine	29,70	29,79	29,83 B	28,22 C	31,18 A	30,72 Bb	24,40 D	34,00 A	28,94 C	32,05 aB	28,37 C	0,753
Grassi	9,25 A	5,84 B	4,23 C	10,88 A	7,52 B	4,02 E	13,92 A	9,81 B	4,44 bD	7,85 C	5,23 aD	0,508
Ceneri	1,28 B	1,43 A	1,32 B	1,17 C	1,57 A	1,38 B	1,08 C	1,38 B	1,27 B	1,27 B	1,77 A	0,091
Indeterminati	1,20	1,12	0,67 C	1,65 A	1,63 B	0,72 D	1,53 B	1,34 aC	0,61 cD	1,76 A	0,99 bCD	0,206

A, B, C, D; P<0.01; a, b, c; P<0.05

Tab. 9 - Acidi Grassi sul crudo (%)

N° Campioni	Dieta		Genotipo			Dieta x Genotipo						DSE
	12	12	8	8	8	Testimone			Bucchette			
						4	4	4	4	4	4	
	Testimone	Bucchette	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	(GL=18)
<i>Serie satura</i>												
C 6:0	0,08	0,12	0,03 Bc	0,18 Aa	0,10 b	0,05 Bb	0,20 A	0,00 B	0,00 B	0,15 Aa	0,20 A	0,058
C 8:0	0,05	0,05	0,05	0,03 b	0,08 a	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00 B	0,10 A	0,047
C 10:0	0,13	0,17	0,13 B	0,13 B	0,20 A	0,10 B	0,15 B	0,15 B	0,15 B	0,10 B	0,25 A	0,047
C 12:0	0,20	0,18	0,15 B	0,18 b	0,25 Aa	0,15 b	0,20	0,25 a	0,15 b	0,15 b	0,25 a	0,053
C 14:0	5,22 a	4,87 b	4,65 B	4,80 B	5,68 A	4,75 B	5,20 AbC	5,70 Aa	4,55	4,40 B	5,65 A	
C 15:0	0,68 A	0,60 B	0,65	0,63	0,65	0,65 a	0,70 Aa	0,70 Aa	0,65 a	0,55 Bb	0,60 b	0,329
C 16:0	0,02	0,10	0,03	0,05	0,10	0,05	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,10	0,20 a	0,062
C 16:0	27,02 b	27,65 a	29,30 A	26,48 B	26,23 B	28,65 Ab	26,95 B	25,45 C	29,95 Aa	26,00 BC	27,00 B	0,108
C 17:0	1,32 A	1,08 B	1,30 A	1,05 Bb	1,25a	1,40 Aa	1,10 b	1,45 Aa	1,20	1,00 B	1,05 Bb	0,707
C 18:0	13,85 b	14,92 a	15,23 A	15,00 A	12,93 B	13,50	13,95	14,10	16,95 A	16,05	11,75	0,173
C 20:0	0,35	0,30	0,30	0,33	0,35	bCD	BbC	BbC	AaB	cD		1,054
C 22:0	0,03	0,00	0,05 a	0,00 b	0,00 b	0,30 B	0,30 B	0,45 Aa	0,30 B	0,35 b	0,25 Bc	0,062
C 24:0	0,03	0,02	0,05 a	0,00 b	0,03	0,10 A	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,047
C 24:0	0,03	0,02	0,05 a	0,00 b	0,03	0,05	0,00	0,05	0,05	0,00	0,00	0,041
<i>Serie insatura</i>												
C 14:1	1,17	1,05	0,85 B	0,93 B	1,55 A	1,00	1,15 B	1,35 aB	0,70	0,70 CcD	1,75 A	0,187
C 15:1	0,28	0,28	0,25 B	0,28 b	0,33 Aa	BbD		CcD				0,047
C 16:1	4,03	3,98	3,23 Bb	4,18 a	4,63 A	0,25 B	0,30	0,30	0,25 B	0,25 B	0,35 A	0,047
C 17:1	0,95	0,93	1,00 A	0,73 B	1,10 A	4,40	4,30	3,40	2,05 Cc	4,05 BD	5,85	0,855
C 18:1ω9	37,78	36,98	35,93 Bb	38,95 Ab	37,28 a	AbD	BbDE	bCD		AaE		0,135
C 18:1ω7	1,53 a	1,30 b	1,25 B	1,33 B	1,68 A	1,30 A	0,75 B	0,80 B	0,70 B	0,70 B	1,40 A	1,202
C 18:2ω6	3,52	3,52	3,73 A	3,28 Bb	3,55 a	36,30 B	39,10 A	37,95 a	35,55 Bb	38,80 Aa	36,60	0,211
C 18:3ω6	0,12	0,10	0,13 a	0,08 b	0,13 a	1,45 ac	1,40 a	1,75	1,05 Bb	1,25 BbC	1,60	0,252
C 18:3ω3	0,03 B	0,08 A	0,08 a	0,03 b	0,08 a	Abc		AaC				0,041
C 20:1ω9	0,10	0,12	0,08 b	0,13 a	0,13 a	3,40 Bb	2,75 C	4,40 A	4,05 A	3,80 aB	2,70 C	0,041
C 18:2CLA	0,70	0,87	0,65	0,85	0,85	0,15 A	0,05 B	0,15 A	0,10	0,10	0,10	0,041
C 20:2ω6	0,25	0,27	0,28 Ab	0,18 B	0,33 Aa	0,05 B	0,15 A	0,10	0,10	0,10	0,15 A	0,041
C 20:3ω6	0,20	0,20	0,25	0,10	0,25	0,70	0,75	0,65 b	0,60 b	0,95	1,05 a	0,249
C 22:1ω9	0,13	0,15	0,20 A	0,08 B	0,15	0,25 B	0,20 BD	0,30 A	0,30 A	0,15 CD	0,35 A	0,041
C 20:4ω6	0,12 A	0,05 B	0,15 A	0,03 C	0,08 B	0,35	0,10	0,15	0,15	0,10	0,35	0,183
C 24:1ω9	0,00 b	0,05 a	0,03	0,00	0,05	0,25 Aa	0,05 Bb	0,10 b	0,15	0,10 b	0,20 a	0,078
C 22:5ω3	0,10 A	0,02 B	0,05 b	0,08 a	0,05 b	0,20 A	0,05 BbC	0,10 aB	0,10 aB	0,00 Cc	0,05	0,033
Totale Saturi	48,98 B	50,05 A	51,90 A	48,83 B	47,83 C	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,05	0,00 b	0,10 a	0,053
Totale Insaturi	51,02 A	49,95 B	48,10 C	51,18 B	52,18 A	0,10 A	0,10 A	0,10 A	0,00 C	0,05 B	0,00 C	0,024
Monoinsaturi	45,98 A	44,85 B	42,80 B	46,58 A	46,88 A	0,10 A	0,10 A	0,10 A	0,00 C	0,05 B	0,00 C	0,024
Polinsaturi	5,03	5,10	5,30 A	4,60 B	5,30 A	49,80 aB	48,80 Bb	48,35 C	54,00 A	48,85 Bb	47,30 D	0,496
ω6	4,20	4,13	4,53 A	3,65 B	4,33 A	50,20 bC	51,20 aC	51,65 B	46,00 D	51,15 aC	52,70 A	0,496
ω3	0,13 a	0,10 b	0,13	0,10	0,13	45,00 Bb	47,20 Ab	45,75	40,60 C	45,95 aB	48,00	0,502
ω6/ω3	34,25	41,33	40,13	36,50	36,75	aB		AaB				0,271
Insaturi/Saturi	1,04 A	1,01 B	0,93 C	1,05 B	1,09 A	5,20 Ab	4,00 Bc	5,90 Aa	5,40 Aa	5,20 Ab	4,70 Bb	0,365
Indice di Aterog.	0,96	0,97	1,02 Aa	0,91 B	0,96 b	4,35 B	3,15 C	5,10 A	4,70	4,15 Bb	3,55 C	0,271
Indice di Tromb.	1,81 B	1,92 A	2,05 A	1,82 B	1,72 C	0,15 a	0,10 b	0,15 a	0,10 b	0,10 b	0,10 b	0,033
Saturi/Polinsaturi	10,03	9,87	9,83 b	10,82 Aa	9,20 B	33,25 b	31,50 b	38,00	47,00 a	41,50	35,50	8,593
PCL/PCE	0,87	0,85	0,79 B	0,89 A	0,90 A	1,01 Cb	1,05 aBC	1,07 B	0,85 D	1,05 aBC	1,12 A	0,021
						0,97 aB	0,95 aB	0,95 aB	1,06 A	0,87 Bb	0,97 aB	0,047
						1,87 B	1,81 BC	1,75 bC	2,24 A	1,83 aBC	1,70 D	0,042
						9,66	12,23 A	8,20	10,01 B	9,41 aBD	10,20 B	0,800
						aBC		bCD				0,800
						0,83 Bc	0,85 BD	0,92 A	0,74 C	0,92 Aa	0,87	0,030
										ABb		0,030

A, B, C, D, E: P<0.01; a,

b, c: P<0.05

Tab. 10 - Acidi Grassi sul cotto (%)

N° Campioni	Dieta		Genotipo			Dieta x Genotipo						DSE
						Testimone			Bucchette			
	12	12	8	8	8	4	4	4	4	4	4	
	Testimone	Bucchette	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	Ch.xPod.	Mar.xPod.	Podolico	(GL=18)
<i>Serie satura</i>												
C 6:0	0,07 a	0,03 b	0,03 B	0,08 A	0,05	0,05 b	0,05 b	0,10 Aa	0,00 Bc	0,10 Aa	0,00 Bc	0,033
C 8:0	0,07 A	0,02 B	0,08 a	0,03 b	0,03 b	0,10 A	0,05	0,05	0,05	0,00 B	0,00 B	0,041
C 10:0	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,000
C 12:0	0,12	0,13	0,13	0,15	0,10	0,15	0,10 b	0,10 b	0,10 b	0,20 a	0,10 b	0,053
C 14:0	3,95 A	3,53 B	3,73	3,80	3,70	3,80 B	4,25 A	3,80 B	3,65 aB	3,35 bC	3,60 B	0,197
C 15:0	0,82 a	0,55 b	0,85	0,65	0,55	1,10 Aa	0,75	0,60 b	0,60 b	0,55 b	0,50 B	0,289
C 16:0	0,12	0,10	0,15 a	0,10	0,08 b	0,25 A	0,05 B	0,05 B	0,05 B	0,15	0,10 B	0,071
C 16:0	26,28	26,08	26,95 A		26,68 B	26,05 aB	26,50 B	26,30	27,85 A	25,35 bC	25,05	
				26,93 B				aB			bC	0,558
C 17:0	1,45 A	1,15 B	1,48 A	1,30	1,13 B	1,50 A	1,50 A	1,35 A	1,45 Aa	1,10 Bb	0,90 B	0,173
C 18:0	15,18 B	16,58 A	15,43 b	16,95 Aa	15,28 B	14,65 B	16,00 b	14,90 B	16,20 b	17,90 Aa	15,65 b	1,106
C 20:0	0,05	0,03	0,08 a	0,03 b	0,03 b	0,15 A	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,05 B	0,05 B	0,041
C 22:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
C 24:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
<i>Serie insatura</i>												
C 14:1	0,72 a	0,62 b	0,70 A	0,55 B	0,75 A	0,75 A	0,70 A	0,70 A	0,65 Ab	0,40 B	0,80 Aa	0,100
C 15:1	0,40	0,22	0,45	0,23	0,25	0,65 Aa	0,25 b	0,30 b	0,25 b	0,20 B	0,20 B	0,215
C 16:1	3,12 b	3,57 a	3,55 a	3,03 b	3,45 a	3,45 A	2,65 Bb	3,25 a	3,65 A	3,40 a	3,65 A	0,387
C 17:1	0,98 A	0,75 B	1,05 A	0,75 B	0,80 B	1,20 Aa	0,80 B	0,95 b	0,90 b	0,70 Bc	0,65 Bc	0,167
C 18:1ω9	40,80 a	39,90 b	37,28 B	41,83 A	41,95 A	37,40 B	42,35 A	42,65	37,15 B	41,30 A	41,25	
								Aa		Ab		0,929
C 18:1ω7	2,08 A	1,17 B	2,05 a	1,40 b	1,43 b	2,90 A	1,60 B	1,75 B	1,20 B	1,20 B	1,10 B	0,455
C 18:2ω6	2,28 B	3,50 A	3,88 A	1,80 C	3,00 B	3,70 A	1,25 bC	1,90 aC	4,05 A	2,35 B	4,10 A	0,355
C 18:3ω6	0,18 A	0,08 B	0,20 A	0,10 B	0,10 B	0,35 A	0,10 aB	0,10 aB	0,05 Bb	0,10 aB	0,10 aB	0,033
C 18:3ω3	0,17	0,15	0,23 A	0,13 B	0,13 B	0,30 A	0,10 B	0,10 B	0,15 B	0,15 B	0,15 B	0,062
C 20:1ω9	0,27 B	0,37 A	0,38 A	0,20 B	0,38 A	0,35 Cb	0,20 Db	0,25 aD	0,40 Ba	0,20 bD	0,50 A	0,033
C 18:2CLA	0,33 B	0,65 A	0,63 A	0,23 B	0,63 A	0,50 aB	0,15 Cc	0,35	0,75 A	0,30	0,90 A	
								aBbC		BbCc		0,103
C 20:2ω6	0,20 a	0,17 b	0,18	0,18	0,20	0,20 a	0,20 a	0,20 a	0,15 b	0,15 b	0,20 a	0,033
C 20:3ω6	0,03 b	0,10 a	0,08	0,05	0,08	0,05	0,00 b	0,05	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,058
C 22:1ω9	0,08 b	0,33 a	0,33	0,20	0,10	0,20	0,05 bc	0,00 Bb	0,45 Aa	0,35 ac	0,20	0,215
C 20:4ω6	0,02	0,08	0,03	0,10	0,03	0,00 b	0,05	0,00 b	0,05	0,15 a	0,05	0,082
C 24:1ω9	0,02	0,00	0,03 a	0,00 b	0,00 b	0,05 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,024
C 22:5ω3	0,12 A	0,03 B	0,03 B	0,15 A	0,05 B	0,05 B	0,20 Aa	0,10 b	0,00 Bc	0,10 b	0,00 Bc	0,053
Totale Saturi	48,20	48,32	48,98 a	49,10 a	46,70 b	47,90	49,35 a	47,35 b	50,05 Aa	48,85 a	46,05	
											Bb	1,687
Totale Insaturi	51,80	51,68	51,03 b	50,90 b	53,30 a	52,10	50,65 b	52,65 a	49,95 Bb	51,15 b	53,95	
											Aa	1,687
Monoinsaturi	48,47 A	46,92 B	45,80 B	48,18 A	49,10 A	46,95 aB	48,60 A	49,85	44,65 Bb	47,75 Ab	48,35 A	1,160
								Aa				0,532
Polinsaturi	3,33 B	4,77 A	5,23 A	2,73 C	4,20 B	5,15 A	2,05 D	2,80 C	5,30 A	3,40 B	5,60 A	0,447
ω6	2,72 B	3,93 A	4,35 A	2,23 C	3,40 B	4,30 A	1,60 C	2,25 BC	4,40 A	2,85 B	4,55 A	0,067
ω3	0,28 A	0,18 B	0,25 a	0,28 A	0,18 Bb	0,35 Aa	0,30 Aa	0,20 Bb	0,15 aB	0,25 b	0,15 aB	0,067
ω6/ω3	11,51 B	25,86 A	21,94 A	8,71 B	25,42 A	12,38 B	5,33 B	16,83	31,50 Aa	12,08 B	34,00 A	8,167
								Bb				0,070
Insaturi/Saturi	1,08	1,07	1,05 b	1,04 B	1,14 Aa	1,09	1,03 B	1,12 a	1,00 Bb	1,05 b	1,17 Aa	0,048
Indice di Aterog.	0,82	0,79	0,84 a	0,82	0,77 b	0,80	0,86 Aa	0,80	0,87 A	0,77 Bb	0,75 B	0,121
Indice di Tromb.	1,71	1,78	1,79 a	1,78	1,66 b	1,67 B	1,79	1,68 b	1,92 Aa	1,78	1,65 B	2,576
Saturi/Polinsaturi	17,16 A	10,80 B	9,57 Bb	19,32 A	13,05	9,40 bC	24,22 A	17,87 B	9,74 bC	14,43 aB	8,23 C	0,055
					aB							
PCL/PCE	0,91	0,95	0,92 b	0,90 b	0,98 a	0,96 b	0,85 Bc	0,92 B	0,88 B	0,95 b	1,04 Aa	0,055

A, B, C, D: P<0.01; a, b, c: P<0.05

L'URO (*Bos primigenius*, Bojanus 1827), PROGENITORE DEI BOVINI DOMESTICI

Ciani F. (1), Matassino D. (1-2)

(1) ConSDABI - National Focal Point italiano della FAO (NFP.I - FAO) per la tutela del germoplasma animale in via di estinzione nell'ambito della Strategia Globale FAO per la gestione della risorsa genetica animale (GS-AnGR, Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources) – Centro di Scienza Omica per la Qualità e per l'Eccellenza nutrizionali - Centro di Ricerca sulle Risorse Genetiche Animali di Interesse Zootecnico - Centro Produzione Sperma ed Embrioni - Contrada Piano Cappelle - 82100 Benevento
(2) Professor Emeritus - Genetic improvement in Animal production.

Premessa

Due precedenti contributi (Ciani F. e Matassino D., 2001 e 2007) riportano in chiave critico-integrativa l'origine dei bovini grigi macroceri e brachiceri autoctoni italiani. Nella presente nota si approfondisce ulteriormente l'apporto del bovino selvatico, l'Uro (*Bos primigenius*, Bojanus 1827), quale progenitore, per una migliore comprensione del processo di domesticazione della specie e del successivo sviluppo delle popolazioni bovine grigie autoctone italiane di *Bos primigenius taurus*.

Origine del Genere *Bos*

Il ramo capostipite dei Bovini inizia a differenziarsi dagli altri Bovidi nel Miocene medio (25 milioni di anni fa) ed è caratterizzato dalla forma ovale o arrotondata della sezione delle corna e dalla flessione dell'asse cranico, molto più marcata che nei Bufali (Grzimek B., 1974). Il genere *Leptobos* (Fig. 1) è ritenuto il probabile progenitore del genere *Bos* comprendente i sottogeneri *Bos*, *Bibos* e *Poefagus*, nonché del genere *Bison*, i quali si sarebbero evoluti indipendentemente da popolazioni isolate di *Leptobos* (Fig. 2); popolazioni che si sono modificate scheletricamente per o deriva genetica o alterazioni cromosomiche (Mc Donald J.N., 1981). I cavicchi ossei delle corna di ambedue i generi sono, infatti, simili nelle principali caratteristiche della forma e delle dimensioni; l'ampliamento della regione fronto-occipitale e un orientamento più laterale delle corna nel *Bos* e nel *Bison* rispetto al *Leptobos* rappresentano un cambiamento somatico parallelo e unidirezionale; probabilmente modifiche ambientali durante il Pliocene (da 5 a 1,8 milioni di anni fa) provocano in Asia Orientale una ampia variabilità di bioterrori permettendo a ridotte popolazioni di *Leptobos* di disperdersi in questi nuovi ecosistemi o bioterrori. Il successivo isolamento favorisce la divergenza e la differenziazione fra loro, mentre la selezione operata dalla diversa 'capacità al costruttivismo' delle suddette popolazioni nei diversi bioterrori favorisce, quasi contemporaneamente, il formarsi di popolazioni riferibili ai generi *Bos* e *Bison*; il

Leptobos sopravvive e coesiste con questi nuovi generi fino al Pleistocene medio (700.000 anni fa) (Mc Donald J.N., 1981; Mazzini M., 1982).

Diffusione e storia della specie *Bos primigenius*

L'Uro (*Bos primigenius*, Bojanus 1827) è una specie che evolve in India settentrionale circa 2 milioni di anni fa, migrando successivamente in tutta l'Asia (Vuure van C., 2005), raggiungendo l'Europa nel periodo dall'Holsteniano (320.000 ÷ 200.000 anni fa) (Arduini P. e Teruzzi G., 1987) che rappresenta il periodo caldo temperato precedente la Glaciazione di Riss (200.000 ÷ 130.000 anni fa); esso compare in Europa centrale circa 250.000 anni fa e, alla fine della Glaciazione di Riss, il suo bioterritorio di distribuzione spazia su tutta la fascia temperata dell'Eurasia, dall'Europa (esclusa l'Irlanda e la Scandinavia centro-settentrionale) al Nord Africa, all'Asia Minore, all'India settentrionale, fino alle coste del Mar Cinese (Fig. 3) (Grzimek B., 1974). Durante questi periodi e fino al termine dell'ultima Glaciazione (Würm, 80.000 ÷ 10.000 anni fa) l'Uro evidenzia una grande 'capacità al costruttivismo' e rappresenta una specie ubiquitaria ampiamente diffusa nella maggior parte dell'emisfero settentrionale euroasiatico, rivestendo - inoltre - un ruolo di primo piano nella sopravvivenza dei popoli 'cacciatore-raccoglitori' del Paleolitico e delle epoche immediatamente posteriori (Ciani F. e Matassino D., 2007). La consistenza dell'Uro inizia a declinare in conseguenza della intensa pressione venatoria e della riduzione degli *habitat* (o *bioterritori*) operata dall'uomo e dalle sue attività. Nell'età del Bronzo (1.250 a.C. circa) in Gran Bretagna l'Uro è ormai estinto o, comunque, assai raro (Fig. 4) (Clutton-Brock J. 2001).

Nell'Europa occidentale e centrale gli ultimi Uri scompaiono definitivamente tra il 1.200 e il 1.400 d.C.; questa specie sopravvive ancora più a lungo in Polonia e in Lituania ove, nel 1.599, il numero di Uri presenti viene stimato a circa 24 capi e nel 1.627 muore l'ultima femmina, con conseguente estinzione della specie (Rokosz M., 1995).

Sottospecie di Uro

Si ritiene che una specie che raggiunge un'ampia diffusione per un periodo molto lungo, dal Pleistocene fino a un recente passato, sia caratterizzata da una notevole variabilità genotipo-fenotipica, ma le principali sottospecie di Uro classificate sono solo le seguenti tre: *Bos primigenius primigenius*, Bojanus 1827, diffuso nella fascia temperata dell'Eurasia; *Bos primigenius namadicus*, Falconer 1859, presente in India; *Bos primigenius ophistonomus*, Pomel 1894, propagatosi in Africa settentrionale. Queste popolazioni si distinguono essenzialmente per alcune caratteristiche fanerotiche, quali: forma delle corna, dimensioni somatiche, colore del mantello, marcato dimorfismo sessuale e corna macrocere¹. In tutto l'areale di

¹ Le corna vengono definite macrocere quando, al termine del loro accrescimento, la loro lunghezza è superiore ad almeno ¾ di quella del cranio (Marchi E., 1927).

distribuzione dell'Uro, non emergono reperti osteologici di alcuna sottospecie o popolazione di bovino selvatico caratterizzata da corna corte (brachicere) (Epstein H., 1971).

Uri italiani

L'immigrazione dell'Uro in Italia avviene durante l'ultima Glaciazione di Würm, in particolare fra il periodo antico e il medio (80.000 ÷ 40.000 anni fa), durante il quale il paleoambiente è di tipo continentale, identificabile con un *habitat* (bioterritorio) 'steppico di tipo asiatico' in grado di favorire l'immigrazione di determinate specie di mammiferi. Dal Paleolitico superiore (35.000 ÷ 10.000 anni fa) alla metà del Neolitico (IV millennio a.C.) la presenza diffusa del bovino selvatico interessa tutto il territorio italiano comprese anche le attuali isole (Masseti M. e Rustioni M., 1990). In questo lungo periodo sono numerose le raffigurazioni, prodotte da artisti preistorici e protostorici, di bovini selvatici i quali costituiscono la specie più rappresentata fra quelle illustrate (Fig. 5). Gli 11 siti preistorici italiani, evidenziando le immagini dell'Uro, sono ampiamente distribuiti su tutto il territorio nazionale e forniscono reperti osteologici del *Bos primigenius primigenius*, spesso relativamente abbondanti (Masseti M. e Rustioni M., 1990).

Caratteristiche somatiche dell'Uro

E' presumibile che una specie ad ampia diffusione come il *Bos primigenius* sp. sia costituita da popolazioni geografiche confluenti l'una nell'altra come un cline; esistono prove delle variazioni bioterritoriali inerenti al colore del mantello e ad altre caratteristiche somatiche, ampiamente testimoniate sia da numerosi dipinti rupestri dell'uomo 'cacciatore-raccoglitore' fin dal Paleolitico sia da descrizioni dell'Uro in documenti storici e sia dalla diversità dimensionale di reperti osteologici raccolti nei numerosi siti paleozoologici e zooarcheologici (Ciani F. e Matassino D., 2001).

Popolazione bovina selvatica dell'Europa occidentale, centrale e settentrionale. Zeuner F.E. (1953, 1963), Epstein H. (1971), Grzimek (1974) e Clutton Brock J. (2001) individuano come segue, sinteticamente, le principali caratteristiche somatiche: taglia raccolta e imponente; altezza al garrese pari a 1,50 m nella femmina e a 1,80 ÷ 2 m nel maschio; maschio adulto con collo molto robusto e privo di giogaia; testa dal peso di circa 48 kg; corna di lunghezza pari a 76 ÷ 95 cm, con una circonferenza basale di 37,5 ÷ 47,5 cm e una distanza fra le punte di 62,5 ÷ 100 cm; appendici cornee inizialmente dirette lateralmente, per poi piegare prima in avanti e successivamente verso l'alto con le punte leggermente ricurve; mantello nero-brunastro con prevalenza di peli neri con l'avanzare dell'età; presenza di un anello chiaro contornante il musello; sincipite con peli rossastri; presenza di una riga dorsale di peli rossastri per tutta la lunghezza del tronco; frequente presenza di una sella chiara sui due lati del dorso; femmina adulta con pelo di colore fulvo, dal chiaro allo scuro; vitelli di colore fulvo alla nascita; pelo folto e lanoso (Fig. 6). Gli Uri che sopravvivono in Inghilterra fino all'Età del Bronzo (1.100 ÷ 1.400 a.C.)

hanno dimensioni più ridotte, con un'altezza media al garrese del soggetto adulto pari a 1,57 m nel maschio e a 1,47 m nella femmina (Grigson G., 1982).

Popolazione bovina selvatica dell'Europa meridionale. Epstein H. (1971), Grzimek B. (1974) e Clutton-Brock J. (2001) descrivono sinteticamente, come segue, le caratteristiche fanerotiche più importanti di questa popolazione: maschio adulto con una lunghezza totale del corpo pari a circa 3,10 m, con un'altezza al garrese pari a 1,75 ÷ 1,85 m e con un peso vivo di 800 ÷ 1.000 kg; accentuato dimorfismo sessuale a favore del maschio adulto; struttura corporea piuttosto leggera; soggetti lievemente sgambati; treno anteriore più sviluppato del posteriore; petto molto abbassato; dorso diritto e leggermente spiovente nella regione della groppa; collo muscoloso con presenza, talvolta, di giogaia; testa stretta, allungata, con profilo diritto e fronte spaziosa; corna di lunghezza di circa 80 cm, massicce, appuntite, con sezione rotonda, sviluppate lateralmente, curvanti verso l'alto e in avanti, di colore bianco avorio e nero alla punta; mantello raso, molto folto durante il periodo invernale e di colore grigio-brunastro tendente al chiaro, ma più scuro durante l'inverno; vitelli con un mantello di colore fulvo alla nascita; presenza di un anello chiaro intorno al musello; peli chiari presenti sul sincipite, lungo la spina dorsale e nella zona interna degli arti e sull'addome (Fig. 7, 8 e 9). Le corna dei soggetti appartenenti all'Uro europeo meridionale rinvenute nel sito di Monte Mario in Roma hanno una circonferenza alla base di circa 50 cm e un diametro di circa 17 cm.

Popolazione bovina selvatica dell'Euroasia sudorientale. Secondo Epstein H. (1971) e Grzimek B. (1974), questa popolazione di Uri evidenzia caratteristiche somatiche non dissimili da quelle dell'Uro europeo meridionale.

Popolazione bovina selvatica africana. Secondo Epstein H. (1971) e Grzimek B. (1974), l'Uro africano, rispetto a quello euroasiatico, è caratterizzato da: arti più lunghi e più leggeri, maschio adulto con un garrese e un collo fortemente sviluppati; testa simile a quella dei bovini selvatici europei ma con fronte tendenzialmente più corta; corna con minore sviluppo laterale e dirette in avanti con le punte tendenti a convergere (raramente dirette verso il basso), con una lunghezza di circa 90 cm, con una circonferenza basale di circa 37 cm, con una distanza fra le punte di circa 72 cm, di colore completamente nero; mantello di colore rosso-brunastro e grigio chiaro o giallo pallido nelle regioni del dorso e della groppa (Fig. 10).

Aspetti principali dell'eco-etologia della specie *Bos primigenius*

L'eco-etologia dell'Uro è quella di un ruminante pascolatore-brucatore, tipico del genere *Bos* che frequenta bioterrori costituiti da: boschi aperti con ampie radure, praterie di fondovalle, ambienti palustri lungo le rive dei fiumi, margini delle foreste intervallate da pascoli e distese erbose di ogni tipo (comprese le steppe), ubicati sia a basse altitudini che su pendici montane, fino ai limiti della vegetazione (Grzimek B., 1974; Ciani F. e Matassino D., 2001). Le fitocenosi erbacee arbustive e arboree costituiscono orizzonti trofici preferiti; quest'ampia variabilità del regime

trofico svolge un ruolo essenziale per questi bovini selvatici nel colonizzare biocenosi molto diverse fra loro, permettendo la diffusione naturale della specie nel vastissimo areale di distribuzione preistorica, protostorica e storica. L'organizzazione sociale dell'Uro è strutturata gerarchicamente in gruppi familiari molto plastici e variabili, temporalmente e spazialmente, nel rapporto tra le categorie demografiche in relazione specialmente alla disponibilità della risorsa trofica ambientale e alla esigenza di protezione dai predatori. Etologicamente i gruppi sociali dei bovini vengono suddivisi in quattro classi gerarchiche: vitelli fino a un anno di età; giovani da 1 a 2 anni; subadulti da 2 a 4 anni; adulti oltre i 4 anni. Generalmente negli spostamenti quotidiani il ruolo di “*leader*” del gruppo è svolto da una femmina anziana con profonda conoscenza del bioterritorio frequentato (*home range*). La disposizione tipica dei componenti il gruppo durante questi spostamenti prevede la collocazione dei maschi adulti al centro della formazione e dei maschi subadulti in posizione di retroguardia o laterale allo scopo di prevenire le azioni predatorie nei confronti dei soggetti più giovani (Fraser A.F., 1968).

Tipizzazione genetica dell'Uro

I primi studi genetici sull'Uro iniziano nel 1996 con l'analisi delle sequenze di frammenti di DNA mitocondriale di due Uri Inglesi (Bailey J.F. *et al.*, 1996). Nel 1997 si evidenzia una sequenza denominata “*aplotipo P*”, rivelata anche nelle ossa di altri 6 Uri della Gran Bretagna (Balasse M. *et al.*, 1997). Nel 2005 si scopre la stessa sequenza di DNA mitocondriale nei resti di un esemplare di Uro del Nord della Spagna risalente a 2.000 anni a.C.. In ricerche successive si evidenzia l’“*aplogruppo P*” anche in reperti di Uro provenienti da: Ungheria, Slovenia, Slovacchia, Austria, Germania e Francia; questi reperti datano un periodo compreso fra il Mesolitico (8.000 ÷ 6.000 a.C.) e l'Età del Bronzo (2.000 ÷ 1.000 a.C.). L’“*aplogruppo P*” sarebbe comparso fra 30.230 e 10.050 anni fa ed è ricollegabile all'espansione di una popolazione bovina selvatica relitta durante l'ultima Glaciazione (Würm) (Edwards C.J. *et al.*, 2007). Su resti osteologici di 5 esemplari di Uro provenienti da siti dell'Italia centro-meridionale e risalenti a vari periodi compresi fra 15.000 e 5.000 anni a.C., si evidenziano nel DNA mitocondriale sequenze caratteristiche dell’“*aplogruppo T3*”, il quale si distingue geneticamente dall’ “*aplogruppo P*” degli Uri centro Europei (Beja-Pereira A. *et al.*, 2006; Edwards C.J. *et al.*, 2007). Questi risultati confermano che i bovini selvatici dell'Europa centrale e quelli dell'Italia meridionale costituiscono popolazioni differenziate bioterritorialmente e geneticamente; invece, gli Uri del Vicino Oriente (sito di Maral Tappeh, Iran) e quelli dell'Italia centro-meridionale sono caratterizzati dallo stesso “*aplogruppo T3*” (Beja-Pereira A. *et al.*, 2006; Edwards C.J. *et al.*, 2007). Durante la massima espansione dell'ultima Glaciazione l'Italia costituisce uno dei tre rifugi dell'Europa meridionale della fauna Olocenica che, al termine del periodo Würmiano (8.000 a.C.), ripopola l'Europa. La successiva espansione post-glaciale delle principali specie della penisola italiana viene limitata a Nord dalla barriera delle Alpi; pertanto, la presenza dell’“*aplogruppo T3*” negli

Uri italiani centro-meridionali può essere dovuta alla sopravvivenza di una relictta popolazione la quale successivamente rimane isolata; dunque, quest'ultima non avrebbe contribuito alla nuova espansione post-glaciale verso l'Europa centrale degli Uri, i quali, probabilmente, sono derivati dalla migrazione di popolazioni iberiche e/o balcaniche caratterizzate dall' "aplogruppo P" (Edwards C.J. *et al.*, 2007). Si ipotizza verosimilmente che i bovini selvatici italiani e quelli del Vicino Oriente derivino dalla stessa popolazione ancestrale molto antica diffusasi anche nei bioterrori italiani attraverso l'area dell'attuale mare Adriatico emersa per la regressione del Mediterraneo durante l'ultima Glaciazione (Van Andel T.H., 1989). Recentemente in Germania, nel sito Eilsleben risalente al Neolitico ceramico (3.500 ÷ 4.000 a.C.) si rinviene un reperto osteologico appartenente a un Uro la cui analisi genetica evidenzia un nuovo aplotipo denominato "E", divergente dall'"aplogruppo P" di circa 52.700 anni. Quest'ultima scoperta può significare una maggiore variabilità genetica dei bovini selvatici prima della massima espansione dell'ultima Glaciazione; inoltre, si potrebbe ipotizzare un altro centro di origine, più spostato verso Est, di bovini selvatici europei da una relictta popolazione del suddetto periodo glaciale (Edwards C.J. *et al.*, 2007).

Popolazioni di Uro di incipiente domesticazione

Attualmente, sia alcune tipizzazioni genetiche che diversi aspetti somatici evidenziati dai reperti osteologici di bovini di incipiente domesticazione reperiti nei siti archeozoologici suggeriscono eventi indipendenti di domesticazione di distinti gruppi di bovini, denominati rispettivamente: (a) Taurini *Bos primigenius taurus*, diffusi nei territori del Vicino Oriente, con una probabile domesticazione indipendente in Africa; (b) Zebuini *Bos primigenius indicus*, presenti in Balucistan con successiva diffusione nella valle dell'Indo (Pakistan) e in India nonché, secondariamente, in Africa con l'introduzione di soli maschi in periodi relativamente più prossimi (1.000 anni a.C.) (Beja-Pereira A. *et al.*, 2006).

Le recenti analisi delle sequenze del DNA mitocondriale dei più antichi resti di discendenti di Uri in fase di domesticazione (*Bos primigenius taurus*), rinvenuti in località del Vicino Oriente (Siria) e risalenti agli inizi del Neolitico preceramico (8.650 ÷ 8.250 a.C.), sono utili per identificare geneticamente gli attuali bovini domestici come Taurini. Le ricerche evidenziano che quest'ultima arcaica popolazione appartiene all'"aplogruppo T" per la presenza dell'"aplogruppo T3". Il materiale osteologico utilizzato viene ritenuto per lungo tempo appartenere a bovini selvatici, ma recenti studi somatici individuano un relativo decremento di dimensioni e, soprattutto, una leggera, ma significativa, riduzione del dimorfismo sessuale che motiva la convinzione di una incipiente domesticazione; questo risultato concorda con il trasferimento sulla limitrofa isola di Cipro di bovini domestici nel successivo periodo riferito a 8.250 ÷ 8.150 anni a.C. (Edwards C.J. *et al.*, 2007). Anche i bovini domestici, che 6.800 anni a.C. iniziano a essere introdotti in Europa, si caratterizzano per l'"aplogruppo T3", oggi presente in tutte le razze bovine domestiche Europee. E' interessante evidenziare che attualmente le

popolazioni del Vicino Oriente si caratterizzano per la presenza dei quattro *aplogruppi* T, T1, T2, T3, dimostrando - così - una più alta variabilità. L’*“aplogruppo T1”* è estensivamente dominante e diffuso in Nord Africa ed è presente in percentuale dal 5 % al 30 % in diverse razze lungo le sponde Europee del Mediterraneo (Portogallo, Spagna, Italia e Grecia), mentre è assente nelle attuali popolazioni bovine dell’Europa centro-settentrionale (Beja-Pereira *et al.*, 2006). Dall’analisi delle sequenze del DNA mitocondriale, le principali razze bovine grigie autoctone italiane risultano caratterizzate dall’*“aplogruppo T3”*, identico a quello degli Uri indigeni, in circa il 60 % degli individui esaminati; frequenza che si riduce al 44,3 % nei soggetti delle altre razze europee; lo stesso aplotipo incide solo per il 30 % nelle razze Anatoliche e in quelle del Vicino Oriente. Allo stato attuale questi risultati fanno supporre che anche gli Uri italiani possono essere considerati diretti progenitori dei tipi genetici bovini autoctoni italiani, poiché si può ipotizzare che gli allevatori Neolitici in Italia abbiano accettato, o addirittura favorito, limitati o moderati livelli di introgressione genetica nelle popolazioni domestiche, almeno con l’allevamento di femmine di *Bos primigenius primigenius* (Caramelli D., 2006; Beja-Pereira A. *et al.*, 2006; Ciani F. e Matassino D., 2007). I bovini domestici introdotti nell’Europa centro-settentrionale con *“aplogruppo T3”*, sebbene abbiano condiviso il bioterritorio con le locali popolazioni di Uro dell’Europa centro-settentrionale caratterizzate dall’*“aplogruppo P”*, non sarebbero oggetto di alcun contributo genetico da parte di questi bovini selvatici; tuttavia, si evidenzia una piccola e leggera presenza di *“aplotipi T”* negli Uri europei centro-settentrionali che, comunque, sono rimasti geneticamente distinti fino alla loro definitiva estinzione, senza contribuire alla formazione delle moderne razze bovine (Edwards C.J. *et al.*, 2007). Successive ricerche sul DNA mitocondriale delle attuali razze bovine grigie autoctone toscane (Maremma, Chianina e Calvana), comparate con le odierne popolazioni indigene Anatoliche e Medio Orientali, confermano la presenza in ambedue i gruppi bovini dei quattro *“aplogruppi T, T1, T2 e T3”*, dei quali il *“T3”* è il più rappresentato. Quanto sopra sarebbe una ulteriore dimostrazione di una comune derivazione genetica delle suddette attuali razze bovine autoctone grigie toscane e degli odierni bovini indigeni Anatolici e Medio Orientali da popolazioni bovine domestiche protostoriche dell’Anatolia e del Medio Oriente e, quindi, da Uri locali e, nel caso dei bovini toscani, probabilmente anche dai Bovini selvatici italiani (Ciani F. e Matassino D., 2007).

La bassa divergenza riscontrata tra le sequenze del DNA mitocondriale entro l’aplogruppo T supporta l’ipotesi secondo la quale gli attuali bovini taurini sarebbero il risultato di un unico evento di domesticazione avvenuto nel periodo Neolitico nel Vicino Oriente, a seguito del quale le mandrie domestiche hanno accompagnato l’uomo durante le sue migrazioni nel vecchio mondo. L’*“aplogruppo Q”* riscontrato unicamente nel tipo genetico autoctono italiano Cabannina deriverebbe da una popolazione differente di Uro diffusa soltanto a Sud delle Alpi (Achilli A. *et al.*, 2008).

I bovini domestici Zebuini (*Bos primigenius indicus*) sembra siano comparsi almeno 5.500 anni a.C., poiché nel sito archeologico di Mehrgarh vicino al fiume Bolan, riferito alle prime culture Neolitiche del Belucistan, vengono rinvenuti resti faunistici di bovini identificati solo come zebù, ove è evidente un chiaro cambiamento faunistico a partire dai grandi progenitori selvatici all'attuale bovino domestico a conformazione somatica più piccola, diffusasi rapidamente in tutta l'India probabilmente grazie a una sua maggiore termotolleranza. Negli ultimi 5.000 ÷ 4.000 anni gli zebù sono l'unico tipo genetico presente nel subcontinente Indiano e, con il diffondersi dell'Induismo, si distribuiscono anche nella penisola Indocinese (Caramelli, 2006). Gli zebù sono portatori delle sequenze degli “aplogruppi Z1 e Z2” nel loro DNA mitocondriale (Edwards C.J. *et al.*, 2007). Sulla base della tipizzazione genetica mitocondriale finora effettuata si stima che i progenitori dei bovini Taurini (*Bos primigenius taurus*) e di quelli Zebuini (*Bos primigenius indicus*) si siano separati prima dell'Olocene (10.000 anni a.C.); pertanto, l'incipiente domesticazione da cui si sviluppano gli zebù avviene in luoghi diversi e indipendentemente da quella dei taurini, considerando anche la divergenza del cromosoma Y fra le due popolazioni: acrocentrico negli zebù e submetracentrico nei taurini; inoltre, le analisi accurate del DNA mitocondriale e di quello del cromosoma Y permettono di quantificare anche l'introggressione genetica fra le due sottospecie (Caramelli D., 2006). L'analisi delle variazioni molecolari in bovini domestici Africani, Asiatici ed Europei dimostra che nei bovini Africani si è avuto anche un marcato processo di introggressione genetica legata al sesso fra *Bos p. taurus* e *Bos p. indicus*; infatti, i dati molecolari ottenuti dall'analisi del DNA mitocondriale e di quello del cromosoma Y suggeriscono che l'introggressione verificatasi in epoca storica fra zebù e taurini (<1.000 anni a.C.) avviene principalmente fra maschi zebù e femmine taurine, poiché il cromosoma Y dello zebù è un marcatore determinante della sottospecie, mentre nessuna traccia di aplogruppo mitocondriale (Z) di zebù è presente (a oggi) nelle popolazioni bovine Africane studiate e classificate come taurine (Caramelli D., 2006).

Attuali popolazioni bovine domestiche primitive autoctone

In Europa sono ancora presenti razze o popolazioni di *Bos p. taurus* che presentano parzialmente o totalmente le caratteristiche somatiche degli Uri, loro diretti progenitori. La conservazione di particolari caratteristiche ancestrali si deve principalmente ad alcuni fattori determinanti quali: il tipo di *bioterritorio* e le modalità di allevamento completamente brado, che si sono mantenuti piuttosto inalterati, permettendo alla selezione naturale di predominare su quella zootecnica con conservazione di alcune caratteristiche somatiche quali: corna macrocere; mole di dimensione medio-grande o grande; treno anteriore più sviluppato di quello posteriore, particolarmente nel maschio adulto. Queste popolazioni sono identificabili nel bovino della Camargue, in diverse razze autoctone iberiche e nella Highland scozzese; bovini, questi, che, però, mantengono dimensioni medie e assenza di dimorfismo sessuale. In Italia sopravvivono alcune razze grigie

autoctone con caratteristiche ancestrali: Podolica, Romagnola e Maremmana; quest'ultima, più di ogni altra popolazione, conserva quasi tutte le caratteristiche somatiche, compreso il dimorfismo sessuale, e comportamentali dell'Uro progenitore.

Conclusioni

Le ricerche genetiche finora effettuate sulle popolazioni di Uro euroasiatiche, permettono, a oggi, di identificare tre differenti aplogruppi del DNA mitocondriale:

- (a) un “*aplogruppo P*” predominante in Europa occidentale e centrale;
- (b) un “*aplogruppo E*” (individuato in un singolo esemplare) in Germania;
- (c) un “*aplogruppo T3*” predominante nel Vicino Oriente e nell'Italia centro-meridionale.

Il profilo genetico, a oggi, emerso dalla tipizzazione di bovini di incipiente domesticazione, avvenuta circa 8.000 anni a.C. nel Vicino Oriente, evidenzia che i bovini introdotti in Europa circa 6.800 anni a.C. appartengono principalmente allo stesso “*aplogruppo T3*” e sarebbero convissuti in Europa centro-occidentale con Uri locali portatori dell’“*aplogruppo P*”. Questi ultimi Uri, sebbene dimostrino una limitata introgressione genetica degli “*aplotipi T*”, non parteciperebbero alla formazione delle popolazioni bovine domestiche europee per plausibili scelte del proprio bestiame da parte degli allevatori dal Tardo Neolitico fino a epoca storica. In Italia, gli attuali Tipi Genetici Bovini grigi Autoctoni, in particolare quelli toscani, derivano anch'essi da popolazioni bovine neolitiche del Vicino Oriente con una probabile introgressione di femmine di Uro indigeno.

Bibliografia

- Achilli A., Olivieri A., Pellecchia M., Ubaldi C., Colli L., Al-Zahery N., Accetturo M., Pala M., Kashani B.H., Perego U.A., Battaglia V., Fornarino S., Kalamati J., Houshmand M., Negrini R., Semino O., Richard M., Macaulay V., Ferretti L., Bandelt H-J., Ajmone-Marsan P., Torroni A. 2008. - Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle. *Current Biology*, 18 (4).
- Arduini P., Teruzzi G. 1987. - “Quanto sangue scorre, dell'antenato Uro, nelle vene del nostro bue domestico?”. *Natura Oggi* n. 12. Ed. Mondadori. Milano.
- Bailey J.F., Richards M.B., Macaulay V.A., Colson I.B., James I.T., Bradley D.G., Hedges R.E., Sykes B.C.. 1996. - “Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species”. *Proc. R.Soc.Lond. Br. Biol.Sc.* 263.
- Balasse M., Bocherens H., Tresset A., Mariotti A., Vigne J.D., 1997. - “Emergence de la production laitiere au Neolithique? Contribution de l'analyse isotopique d'ossements de bovins archeologiques”. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de Paris. Sciences de la Terre et des Planetes* n. 325.

- Beja-Perejra A., Caramelli D., Lalueza-Fox C., Vernesi C., Ferrand N., Casoli A., Goyache F., Royo L.J., Conti S., Lari M., Martini A., Ouragh L., Magid A., Atash A., Zsolnai A., Boscato P., Triantaphylidis, Ploumi K., Sineo L., Mallegni F., Taberlet P., Erhard G., Sampietro L., Bertranpetit J., Barbujani G., Luikart G., Bertorelle G.. 2006. – “The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA”. PNAS n. 21, vol.103.
- Caramelli D. 2006. – “The Origins of Domesticated Cattle”. Human Evolution: Special issue on the Antropocorous Fauna n. 20. Ed. Springer.
- Ciani F., Matassino D. 2001. – “Il bovino grigio allevato in Italia; origine. Nota 1: il bovino Macrocerò”. Taurus Speciale n.12. Ed. A.N.A.B.I.C.. Perugia.
- Ciani F., Matassino D. 2007. – “Il bovino grigio allevato in Italia: origine ed evoluzione. Nota 2: il bovino Brachicero”. Taurus Speciale n. 6. Ed. A.N.A.B.I.C.. Perugia.
- Clutton-Brock J. 2001. – “Storia naturale della domesticazione dei mammiferi”. Ed. Bollati Boringhieri. Torino.
- Edwards C.J., Bollongino R., Scheu A., Chamberlain A., Tresset A., Vigne J.D., Baird J.F., Larson G., Y.W. Ho S., Heupink T.H., Shapiro B., Freeman A.R., Thomas M.G., Arbogast R.M., Arndt B., Bartosiewicz L., Benecke N., Budja M., Chaix L., Choyke A.M., Coqueugniot E., Dohle H.J., Goldner H., Hartz S., Helmer D., Herzig B., Hongo H., Mashkour M., Ozdogan M., Pucher E., Roth G., Shadelinding S., Schmolcke U., Schulting R.J., Stephan E., Uerpmann H.P., Voros I., Voytek B., Bradley D.G., Burger J. 2007. – “Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs”. Pr. of B. Royal Society n. 274.
- Epstein H. 1971. – “The origin of domestic animals of Africa. Vol.I”. Ed. Africana Publishing Corporation. London.
- Fraser A.F. 1968. – “Reproductive Behaviour in Ungulates”. Ed. Academic Press. London.
- Grigson C. 1982. – “Cattle in Prehistoric Britain”. The ARK, February.
- Grzimek B. 1974. – “Vita degli Animali, Vol.XIII. Mammiferi IV”. Ed. Bramante. Milano.
- Heck H. 1932. – “Die Ruckzuchtung ausgestorbener Tiere”. Ed. Tierparks Hellabrunn. Monaco.
- Marchi E. 1927. – “L’evoluzione genealogica degli animali domestici”. Zootechnia Speciale, Nuova Enciclopedia Agraria Italiana. Ed. Utet. Torino.
- Masseti M., Rustioni M. 1990. – “Mammiferi del tardo Pleistocene italiano: la produzione artistica e i dati paleontologici”. Studi per l’Ecologia del Quaternario, n. 9: Vol.12.
- Mazzini M. 1982. – “Guida del Museo di Geologia e Paleontologia. Università di Firenze”. Ed. Landi. Firenze.
- Mc Donald J.N. 1981. – “North American Bison, their classification and evolution”. Ed. University of California Press. Berkeley.
- Merla G. 1949. - I *Leptobos* italiani. Paleontografia italica, Vol. 56.

- Pellecchia M., Negrini R., Colli L., Patrini M., Milanesi E., Achilli A., Bertorelle G., Cavalli Sforza L.L., Piazza A., Torroni A., Ajmone-Marsan P. 2007. – “The mystery of Etruscan origins: novel clues from *Bos taurus* mitochondrial DNA”. Proceeding of Royal Society B.
- Rokosz M. 1995. – “History of the Aurochs (*Bos primigenius*) in Poland”. Animal Genetic Resources Information n.16. Ed. FAO. Roma.
- Van Andel T.H., 1989. – “Late Quaternary sea-level changes and archaeology”. Antiquity n. 63.
- Vuure van C. 2005. – “Retracing the Aurochs: History, Morphology and Ecology of an Extinct Wild Ox”. Ed. Pensoft Publishers. Sofia – Moscow.
- Zeuner F.E. 1953. – “The colour of the wild cattle of Lascaux”. Man n. 53.
- Zeuner F.E. 1963. – “A history of domesticated animals”. Ed. Hutchinson. London.

London.

Fig. 1. Scheletro di *Leptobos* (da Merla G., 1949).

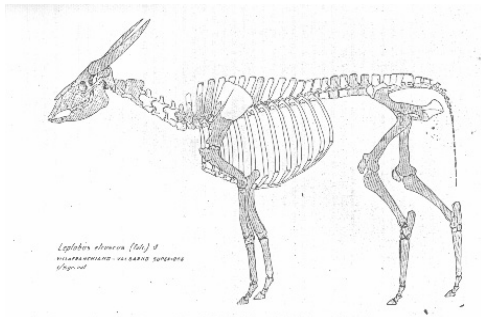


Fig. 2. Porzione superiore del cranio di *Leptobos stenometopon* (da Merla G., 1949).

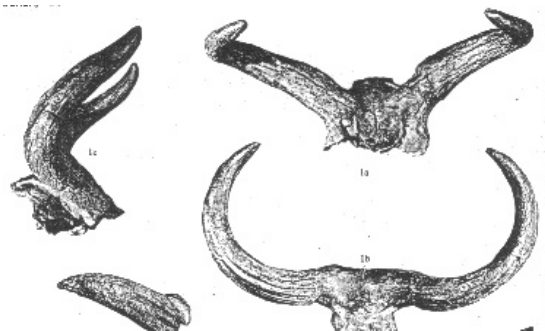


Fig. 3. Aree di diffusione dell'Uro (*Bos primigenius* sp.).



Fig. 4. Scheletro di Uro maschio dell'Europa centro-settentrionale (da Epstein H., 1971).

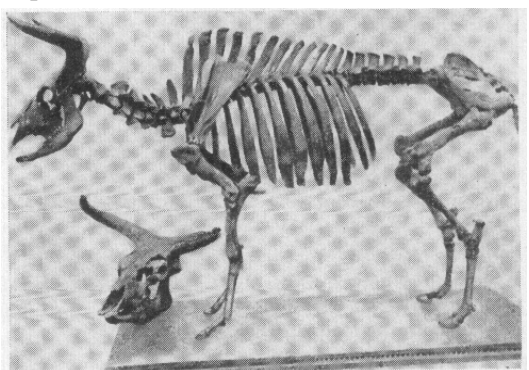


Fig. 5. Raffigurazione di Uro maschio del Paleolitico dell'Italia meridionale (da Masseti M. e Rustioni M., 1990).



Fig. 6. Immagine di toro, vacca e vitello di Uro dell'Europa centro-settentrionale (da Heck H., 1932).



Fig. 7. Raffigurazione Paleolitica di Uro dell'Europa meridionale.

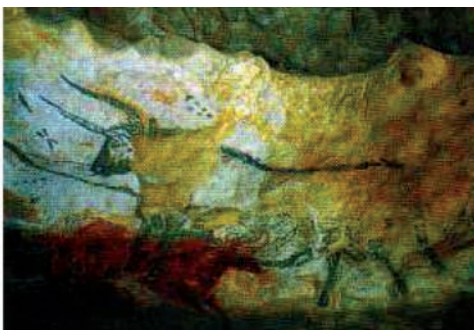


Fig. 8. Raffigurazione Paleolitica di probabile femmina di Uro dell'Europa meridionale.



Fig. 9. Toro maremmano con caratteristiche somatiche dell'Uro dell' Europa meridionale.



Fig. 10. Immagine di combattimento di tori selvatici, Egitto periodo ramesside (1.292÷1.060 a.C.).



COMPORAMENTO ALIMENTARE DI VITELLONI PODOLICI AL PASCOLO

Braghieri A., Sabia E., Pacelli C., Piazzolla N., Girolami A., Napolitano F.

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Animali, Università degli Studi della Basilicata

Riassunto – La presente indagine ha inteso valutare il comportamento alimentare e la dieta ingerita da 6 vitelloni Podolici allevati al pascolo, in funzione della stagione (primavera vs estate). Nello stesso periodo sono state valutate le variazioni quantitativo-qualitative del pascolo.

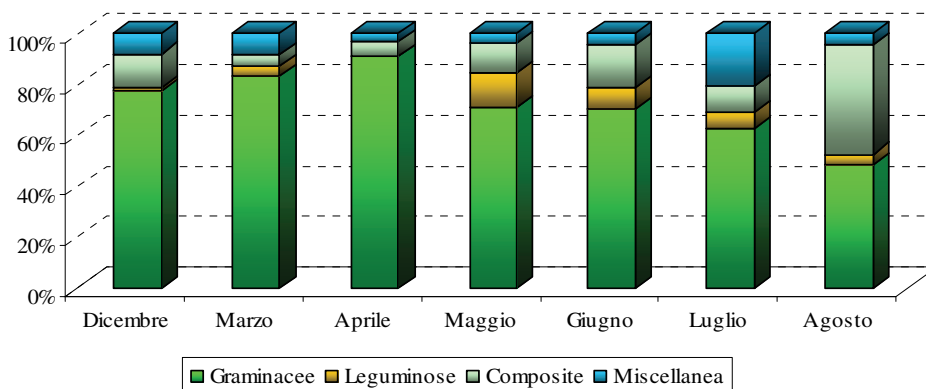
Lo studio del pascolo ha evidenziato un andamento crescente della biomassa fino a raggiungere il picco nel mese di Maggio e successivamente un graduale decremento. L'analisi qualitativa presenta un progressivo aumento della sostanza secca, facendo registrare il picco nel mese di luglio, e contestualmente un aumento della fibra grezza ed in particolar modo del contenuto in NDF. La frequenza dei morsi dei vitelloni Podolici al pascolo è risultata più elevata in primavera che in estate ($P < 0,01$), mentre non sono state osservate differenze significative per la grandezza del morso. Pertanto, il tasso di ingestione, pari al prodotto tra queste due variabili, è risultato maggiore in primavera ($P < 0,05$). L'altezza dell'erba è risultata correlata negativamente con la frequenza del morso ($P < 0,001$) e positivamente con la grandezza del morso ($P < 0,01$) e ha probabilmente inibito il livello di ingestione nel periodo estivo. Nella presente indagine, infatti, il livello di ingestione al pascolo è risultato molto più elevato in primavera ($P < 0,01$) poiché sia il tasso di ingestione (grandezza dei morsi x frequenza dei morsi) sia la percentuale di tempo trascorso a pascolare (43,6 % in primavera e 28,7% in estate) sono risultati maggiori in questa stagione. Per quanto riguarda le leguminose, questa famiglia viene consumata maggiormente in primavera ($P < 0,05$). Tale risultato è stato probabilmente determinato dalla maggiore disponibilità di leguminose osservata in questa stagione. Vengono, infine, confermati i risultati relativi alla preferenza dei bovini per le essenze erbacee rispetto a quelle arbustive. Infatti, pur avendo a disposizione circa 2 ha tra arbusti e alberi, i bovini hanno utilizzato prevalentemente essenze erbacee per comporre la propria dieta. I risultati della presente indagine hanno confermato che il periodo primaverile si presta maggiormente all'allevamento dei bovini Podolici al pascolo. Infatti, la disponibilità di biomassa è più elevata e le caratteristiche chimiche e fisiche delle essenze hanno consentito una maggiore frequenza dei morsi, una maggiore velocità di assunzione dell'alimento e un maggior livello di ingestione.

Parole chiave: Vitellone Podolico, Qualità del pascolo, Comportamento ingestivo

Introduzione

Consolidare il rapporto tra territorio, allevamento e produzioni locali tipiche è un obiettivo che da diversi anni si sta cercando di perseguire nel nostro Paese ed in particolar modo nel meridione d'Italia. Questo comporta scelte ben precise per le implicazioni di carattere sociale, economico e ambientale che da esso derivano. Nelle zone collinari e montane, l'utilizzazione dei pascoli, consente uno sfruttamento razionale dei terreni e ciò non solo per il fatto che essi contribuiscono in maniera marcata alla stabilità dei suoli, riducendo l'erosione, ma anche e soprattutto perché sono in grado di fornire produzioni foraggere e zootecniche sostenibili, da un punto di vista economico ed ambientale. In particolare, l'allevamento di razze locali, come i bovini Podolici, orientato ad una produzione tradizionale e più qualificata, potrebbe consentire di ottenere prodotti tipici che possono favorire la valorizzazione di particolari microeconomie locali. La salvaguardia delle razze autoctone evita infatti la perdita di specifiche combinazioni geniche, permette di sfruttare le peculiarità funzionali e produttive degli animali e quindi favorisce lo sviluppo di attività umane sul territorio. La conoscenza delle prerogative foraggere delle fitocenosi pascolive, tanto in termini di produzione, quanto di qualità nutrizionale in senso lato, rappresenta un elemento fondamentale per assicurare una buona copertura dei fabbisogni nutritivi del bestiame e per una gestione razionale del pascolo. Queste prerogative andrebbero riferite alla biomassa effettivamente assunta dagli animali che, come noto, non coincide mai con quella offerta, a causa del carattere selettivo dei prelievi (Gordon, 1995).

Figura 2 - Composizione floristica del pascolo



Lo studio della qualità dei pascoli, in termini chimico-nutrizionali e di composizione floristica, appare indispensabile al fine di valutare le potenzialità gestionali e produttive delle aree marginali. In queste zone, infatti, per limiti pedologici ed ambientali non è ipotizzabile uno sviluppo ispirato ai modelli di zootecnia intensiva. L'utilizzo del pascolo svolge un ruolo primario per l'allevamento del vitellone Podolico, basato essenzialmente sull'applicazione della linea vacca-vitello (Braghieri et al., 2007). Poiché questa razza ha conservato una marcata stagionalità riproduttiva, come avviene nelle specie selvatiche e in alcune razze domestiche poco selezionate, i parti sono concentrati all'inizio della primavera, quando le caratteristiche quanti-qualitative del pascolo sono migliori, consentendo una buona produzione lattea e soddisfacenti incrementi ponderali dei vitelli. L'utilizzo del pascolo come risorsa alimentare consente agli animali di estrinsecare appieno il proprio repertorio comportamentale, in condizioni ambientali prossime a quelle in cui si trovano le specie selvatiche (Napolitano et al., 2005). La relazione ecologica tra Podolica e pascolo, soprattutto nelle aree marginali della Basilicata, aiuta a comprendere in che misura le risorse naturali possono soddisfare le necessità nutrizionali dei vitelloni, garantendo soddisfacenti accrescimenti ed una accettabile condizione corporea.

Malgrado siano già state svolte indagini approfondite in merito alle caratteristiche quanti-qualitative dei pascoli delle aree marginali meridionali (Braghieri et al., 2006; 2007), le conoscenze riguardo il comportamento al pascolo dei vitelloni Podolici, in funzione delle variazioni nella disponibilità pabulari nell'arco delle stagioni, sono ancora limitate. I numerosi fattori intrinseci (specie, razza, età, stato fisiologico e sanitario etc.) ed estrinseci (condizioni climatiche, stato delle cotiche, carichi istantanei e modalità di pascolamento) che interferiscono con l'attività alimentare al pascolo, rendono inoltre estremamente complicata la valutazione di ciò che è effettivamente assunto dagli animali (Ziliotto e Scotton, 1992). Necessariamente, dunque, la potenzialità foraggiera viene di norma riportata all'intera biomassa aerea presente che, pur con i limiti citati, rappresenta un dato oggettivo e dunque confrontabile. A parità di altri fattori, esso sarà tanto più prossimo all'ingerito quanto più il coefficiente di utilizzazione della biomassa sarà elevato, come avviene in situazioni di pascolamento intensivo; viceversa, sarà tanto più distante con coefficiente basso, tipico del pascolamento estensivo, dove gli animali possono selezionare molto i prelievi.

In queste condizioni è necessario adottare tecniche di rilievo adeguate per stimare sia le quantità ingerite dagli animali, sia la qualità della dieta in termini di composizione chimica e di composizione floristica.

Il presente studio ha inteso valutare il comportamento alimentare e la dieta ingerita da vitelloni Podolici al pascolo in funzione della stagione (primavera vs estate). Nello stesso periodo sono state, inoltre, valutate le variazioni quanti-qualitative del pascolo stesso.

Materiali e metodi

L'indagine è stata condotta nel periodo Dicembre 2007 - Agosto 2008, presso un'azienda ad indirizzo cerealicolo-zootecnico, ubicata nel comune di Irsina (MT), a 338 m s.l.m.. La zona è caratterizzata da inverni freddi e nebbiosi e da estati calde e secche, con escursioni termiche giornaliere abbastanza elevate e con scarsa piovosità. La temperatura (T°) e l'umidità relativa (UR%) rilevate nel corso del periodo di osservazione sono riportate in Tabella 1.

La sperimentazione ha interessato 6 vitelli, nati nel periodo marzo-aprile 2007, allevati al pascolo insieme alle madri e trasferiti a circa 11 mesi di età (peso vivo medio di $383,33 \pm 9,07$ kg) in un'area pascoliva recintata, di circa 20 ha (18 ha erbacea, 2 ha arbustiva). I soggetti sono stati pesati con cadenza mensile per calcolare l'incremento medio giornaliero (IMG). Gli animali pascolavano per 12 ore al giorno e, successivamente, venivano trasferiti in un ricovero dove ricevevano un'integrazione pari a 3 kg/d/capo di sfarinato (31% avena, 31% favino, 31% orzo, 3% semi di lino, 1% integratori minerali) nel corso del periodo primaverile e di 5 kg/d/capo nel periodo estivo e fino alla macellazione (primi di settembre), effettuata a circa 18 mesi di età.

Valutazione del pascolo

Per la valutazione delle caratteristiche quanti-qualitative del cotico erboso dell'area pascoliva, sono state costruite 15 gabbie di esclusione di $2,25 \text{ m}^2$ ($h = 1 \text{ m}$), delimitate da filo spinato per impedire l'intrusione da parte degli animali. I prelievi di pascolo sono stati effettuati a 2,5 cm di altezza dal suolo su 1 m^2 di superficie, utilizzando un falchetto a mano e un metro quadrato metallico (Martiniello e Berardo, 2005), nei mesi di dicembre 2007 (taglio tempo 0) e, successivamente, a marzo, aprile, maggio, giugno, luglio e agosto.

Per ogni prelievo del cotico erboso è stato rilevato il peso del foraggio tal quale e il contributo produttivo delle specie appartenenti alle principali famiglie botaniche (Graminacee, Composite, Leguminose e Miscellanea). In seguito gli stessi campioni sono stati posti in stufa a 105°C per la determinazione della sostanza secca (SS), inoltre sono state determinate le varie frazioni fibrose (NDF, ADF, ADL), la proteina grezza (PG), l'estratto etereo (EE), la fibra grezza (FG), le ceneri e i carboidrati non strutturali (NSC), tutti in percentuale sulla sostanza secca.

Osservazione del comportamento

Da maggio ad agosto 2008, con cadenza quindicinale, sono state effettuate osservazioni di 12 ore, da due osservatori che si sono alternati in due periodi, di 6 ore ciascuno (7.00-13.00; 13.00-19.00). Gli osservatori, la cui presenza non recava disturbo o alterazioni nei comportamenti degli animali, hanno utilizzato il metodo di rilevamento, basato sull'osservazione diretta di un solo animale (*focal animal*). Gli operatori erano posti ad una distanza tale (1-2 m) da poter valutare anche il comportamento alimentare (Martin e Bateson, 2007). Ogni ora sono stati annotati il numero di morsi osservati nell'arco di 1 minuto durante l'attività di pascolamento,

per determinare la frequenza del morso. Il campionamento dell'erba selezionata al pascolo è stato eseguito mediante la tecnica dell'*hand plucking* (Gordon, 1995), basata sulla simulazione dei morsi effettuati dagli animali. Il materiale raccolto (15 morsi simulati per ogni ora di osservazione) è stato riposto in sacchetti impermeabili e in borse termiche, al fine di limitare la perdita di umidità. Sui campioni prelevati e pesati per stimare la grandezza del morso, è stata anche effettuata la composizione floristica, per valutare le preferenze degli animali in termini di essenze ingerite. Successivamente i prelievi sono stati essiccati in stufa alla temperatura di 105°C, per la determinazione della sostanza secca e per le analisi bromatologiche.

L'ingestione degli animali al pascolo è stata stimata applicando le seguenti formule:

Tasso di ingestione = Grandezza del morso x Frequenza del morso

Ingestione giornaliera = Tasso di ingestione x tempo di pascolamento

Analisi statistica

I dati relativi al comportamento ingestivo e alla qualità del pascolo sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante T-test al fine di valutare le differenze tra le stagioni. In particolare, per ogni rilievo è stata calcolata la media delle osservazioni condotte ogni ora e su questi dati è stata condotta l'analisi statistica.

Discussione dei risultati

Prestazioni produttive dei vitelloni

Nel corso del periodo di osservazione i soggetti hanno evidenziato degli IMG di $1,05 \pm 0,05$ kg, raggiungendo dei pesi medi finali pari a $599,47 \pm 12,06$ kg. I dati relativi agli incrementi appaiono soddisfacenti e superiori a quelli rilevati in una prova precedente in vitelloni Podolici allevati nella stessa area pascoliva e macellati a 14 mesi di età (Braghieri et al., 2007).

Andamento del pascolo

Lo studio del pascolo ha evidenziato un andamento crescente della biomassa fino a raggiungere il picco nel mese di Maggio (Figura 1) e successivamente un graduale decremento fino al termine della prova, in accordo con osservazioni precedenti (Braghieri et. al., 2006, Martiniello e Berardo 2005). Il picco massimo ha fatto registrare una produzione media per ettaro pari a 188,04 q/TQ, leggermente superiori rispetto a quanto osservato da Braghieri et al. (2007). L'andamento qualitativo del pascolo segue lo sviluppo vegetativo stagionale delle specie presenti. L'analisi qualitativa presenta un progressivo aumento della sostanza secca, facendo registrare il picco nel mese di luglio, e contestualmente un aumento della fibra grezza ed in particolar modo del contenuto in NDF (Tabella 2). La proteina grezza presenta un valore medio pari al 3,2%, in linea con quanto osservato da Martiniello e Barbato 2005; la concentrazione energetica del pascolo presenta un picco nel mese di marzo (0,63 UF/kg SS), una leggera flessione nel

mese successivo (0,44 UF/kg SS), una ripresa al termine della stagione primaverile (0,52 UF/kg SS), per poi diminuire durante la stagione calda (0,40 UF/kg SS).

Dall'analisi della composizione floristica (Figura 2) possiamo notare come la famiglia maggiormente rappresentativa sia risultata quella delle graminacee. Come già osservato nell'anno precedente (Braghieri et al., 2007), essa raggiunge il picco produttivo nel mese di aprile (91,08%). Tuttavia, contrariamente all'anno precedente, in cui si era registrata una riduzione della biomassa già a giugno, nel 2008 il valore minimo viene registrato nel mese di agosto (48,61%). La famiglia delle Leguminose, che rappresenta la principale fonte azotata dei pascoli naturali, ha fatto registrare il suo picco produttivo nel mese di maggio (13,66%), analogamente all'andamento floristico dei rilievi passati. Questa composizione è tipica dei pascoli dell'Italia meridionale (Martiniello e Berardo 2005; Braghieri et al., 2007). Questi risultati confermano quanto già osservato da Braghieri et al. (2007), ossia che il mese di maggio rappresenta il periodo più favorevole per l'utilizzo del pascolo naturale nell'alimentazione animale.

Comportamento ingestivo

Le variabili relative al comportamento ingestivo dei vitelloni Podolici al pascolo sono riassunte in Tabella 3. Al fine di assumere una dieta che soddisfi i fabbisogni nutritivi per il mantenimento, per l'accrescimento e per la produzione, l'animale adotta una serie di decisioni a breve termine, riguardanti le essenze da scegliere nel pascolo, il tempo che intercorre fra un morso ed un altro e la velocità di ingestione, e altre di lungo termine relative al tempo dedicato all'alimentazione e alla scelta dell'area di pascolo (Napolitano et al., 2007). In particolare, il tasso di ingestione al pascolo è determinato dalla grandezza dei morsi e dalla frequenza dei morsi. Tali variabili non sono indipendenti poiché morsi più grandi richiedono un tempo maggiore per essere masticati e deglutiti. In generale, i ruminanti preferiscono le essenze che riescono ad ingerire più velocemente (De Rosa et al., 1997). La frequenza dei morsi dei vitelloni Podolici al pascolo è risultata più elevata in primavera che in estate ($P < 0,01$), mentre non sono state osservate differenze significative per la grandezza del morso. Pertanto, il tasso di ingestione, pari al prodotto tra queste due variabili, è risultato maggiore in primavera ($P < 0,05$) perché gli animali sono stati in grado di ingerire più velocemente la dieta selezionata al pascolo. Analogamente, Lamoot et al. (2005) hanno osservato una frequenza di morsi più elevata in primavera che in qualsiasi altra stagione. La maggiore frequenza dei morsi osservata nel periodo primaverile è probabilmente da mettere in relazione al minor contenuto di sostanza secca osservato nelle essenze erbacee in questa stagione (Tabella 2) e all'altezza dell'erba, risultata maggiore nel periodo estivo ($P < 0,10$).

Nella Tabella 4 vengono riportati i coefficienti di correlazione fra l'altezza dell'erba ed alcuni parametri del comportamento ingestivo. Analogamente da quanto osservato da Gibb et al. (1997) in vacche Frisone al pascolo, l'altezza dell'erba è risultata correlata negativamente con la frequenza del morso ($P < 0,001$).

e positivamente con la grandezza del morso ($P < 0,01$). Anche Lamot et al. (2005), hanno rilevato una maggiore frequenza del morso con il ridursi dell'altezza del cotico erboso in bovini Highland e in pony Shetland in condizioni di pascolamento associato.

L'ingestione di pascolo può essere definita come il prodotto fra la frequenza del morso, la grandezza del morso ed il tempo trascorso a pascolare (Allden and Whittaker, 1970) a loro volta influenzati dall'altezza della copertura erbosa, dalla densità e dalla massa di erba (Boval et al., 2007). Nella presente indagine il livello di ingestione al pascolo è risultato molto più elevato in primavera ($P < 0,01$) poiché sia il tasso di ingestione (grandezza dei morsi x frequenza dei morsi), sia la percentuale di tempo trascorso a pascolare (43,6 % in primavera e 28,7% in estate) sono risultati maggiori in questa stagione. In particolare, l'incidenza del tempo di pascolamento può essere stata depressa nel periodo estivo sia dalla temperatura ambientale (Tabella 1), sia dallo stadio fenologico delle essenze al pascolo che, approssimandosi alla fine del ciclo vegetativo, presentano un contenuto di fibra più elevato e risultano pertanto meno appetibili. Nel periodo estivo, infatti, i vitelloni sono dovuti ricorrere più abbondantemente all'integrazione alimentare per soddisfare i propri fabbisogni di mantenimento e accrescimento. Inoltre, nel caso di pascolamento libero o di pascolamento controllato di tipo estensivo, dove gli animali fruiscono di ampie superfici, l'ingestione si subordina soprattutto alla struttura della coltre erbosa, in particolare alla sua altezza (Delagarde et al., 2001). Secondo quanto riportato da Gusmeroli et al. (2005) e da Lamoot et al. (2005), si considera che i bovini siano in grado di utilizzare al meglio il pascolo quando l'altezza è di 10-15 cm. Quando l'altezza oltrepassa i 20-30 cm, o si riduce al di sotto dei 6 cm, si verifica una riduzione dei prelievi (Lamoot et al., 2005). Nella prima circostanza la causa va ricercata nella minore efficienza di raccolta e prensione connessa ad una più difficile manipolazione (Arnold e Dudzinsky, 1967): il rapporto tra gli atti mandibolari utili e quelli totali tende a diminuire e, con esso, la velocità d'ingestione. Viceversa, nel caso di coltre erbosa molto bassa, il calo d'ingestione trova ragione nella ridotta possibilità di utilizzo della lingua e nella mancanza di incisivi superiori (Illius e Gordon, 1993; Gusmeroli et al., 2005).

In termini di composizione floristica la dieta dei vitelloni Podolici è risultata principalmente basata sulle graminacee indipendentemente dalla stagione, seguite da miscellanea e composite (Tabella 5) con una distribuzione tra le famiglie botaniche simile a quella disponibile al pascolo (Figura 2). L'ingestione di qualsiasi essenza, infatti, dipende dalla sua appetibilità e dalla sua accessibilità. Questa ultima è a sua volta influenzata dall'altezza, dalla densità e dalla localizzazione nel pascolo rispetto alle altre piante (Milne, 1991). Sebbene in prove condotte per mezzo di *cafeteria trials*, i bovini Podolici abbiano dimostrato una preferenza per le leguminose rispetto alle graminacee (Braghieri et al., 2003), nella presente indagine i vitelloni hanno dovuto adattare la loro dieta alla disponibilità di essenze al pascolo. Per quanto riguarda le leguminose, in accordo con Lamoot et al. (2005), questa famiglia viene consumata maggiormente in primavera ($P < 0,05$).

Tale risultato è stato probabilmente determinato dalla maggiore disponibilità di leguminose osservata in questa stagione (Figura 2). Non sono state osservate differenze significative fra le due stagioni, per quanto riguarda le composite (Tabella 5) mentre gli animali hanno consumato una maggiore percentuale di miscellanea in estate rispetto alla primavera ($P < 0,01$), probabilmente a causa di una loro maggiore disponibilità in questa stagione, soprattutto a luglio (Figura 2).

Vengono, infine, confermati i risultati relativi alla preferenza dei bovini per le essenze erbacee rispetto a quelle arbustive (Tabella 5). Infatti, pur avendo a disposizione circa 2 ha tra arbusti e alberi, i bovini hanno utilizzato prevalentemente essenze erbacee per comporre la propria dieta. Tali risultati confermano quelli di precedenti ricerche (Pratt et al., 1986) che hanno indotto a classificare questa specie come pascolatrice (*grazer*) rispetto ad altre, ad esempio i caprini, che preferendo gli arbusti vengono definite brucatici (*browser*). Gli arbusti sono stati consumati più in primavera che in estate anche se le differenze non sono risultate significative (Tabella 5).

Conclusioni

I risultati della presente indagine hanno confermato che il periodo primaverile si presta maggiormente all'allevamento dei bovini Podolici al pascolo. Infatti, la disponibilità di biomassa è più elevata e le caratteristiche chimiche e fisiche delle essenze hanno consentito una maggiore frequenza dei morsi, una maggiore velocità di assunzione dell'alimento e un maggior livello di ingestione. Questo ultimo risultato è da attribuire sia al tasso di ingestione (grandezza dei morsi x frequenza dei morsi), sia alla percentuale di tempo trascorso a pascolare (43,6 % in primavera e 28,7% in estate) che sono stati maggiori in questa stagione. L'altezza dell'erba è risultata correlata negativamente con la frequenza del morso e positivamente con la grandezza del morso e ha probabilmente inibito il livello di ingestione nel periodo estivo. In termini di composizione floristica la dieta dei vitelloni Podolici è risultata principalmente basata sulle graminacee indipendentemente dalla stagione, seguite da miscellanea e composite, con una distribuzione tra le famiglie botaniche simile a quella disponibile al pascolo.

Ringraziamenti

Lavoro eseguito nell'ambito del progetto TECOPA (Tecnologie ecocompatibili per produzioni animali tipiche di qualità) e nell'ambito del Progetto Interregionale E.QU.I.ZOO.BIO. (Efficienza, Qualità e Innovazione nella Zootecnia Biologica). Gli Autori ringraziano l'azienda zootecnica Potenza Francesco, sita a Irsina (MT).

Bibliografia

- Allden W.G., Whittaker A.M., 1970. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Aust. J. Agric. Res.*, 21, 755-766.
- Arnold e G.J., Dudzinsky M.L., 1967. Studies on the diet of the grazing animal. II. The effect of physiological status in ewes and pasture availability on herbage intake. *Aust. J. Agric. Res.*, 18, 349-359.
- Boval M., Fanchone A., Archimede H. and Gibb M. J., 2007. Effect of structure of a tropical pasture on ingestive behaviour, digestibility of diet and daily intake by grazing cattle. *Grass and Forage Science*, 62, 44-54.
- Braghieri A., Pacelli C., De Rosa G., Napolitano F., Surianello F., Girolami A., 2003. Evaluation of cattle feeding preferences using short term trials. *Italian Journal of Animal Science*, 2 (Supplement 1), 246-248.
- Braghieri A., Pacelli C., Sabia E., Girolami A., Napolitano F., 2006. Allevamento biologico del vitello Podolico. *Taurus Speciale*, anno XVIII, 7,41-50.
- Braghieri A., Pacelli C., Marsico G., Sabia E., Tarricone S., Napolitano F., 2007. Allevamento biologico del vitellone Podolico. *Taurus Speciale*, anno XIX, 37-46.
- Delagarde R., Prache S., D'Hour P., Petit M., 2001. Ingestion de l'herbe par les ruminants au pâturage. *Fourrages*, 166, 189-212.
- De Rosa G., Fedele V., Napolitano F., Gubitosi L., Bordi A., Rubino R., 1997. Dietary preferences in adult and juvenile goats. *Animal Science*, 65, 457-463.
- Gibb M.J., Huckle C.A., Nuthall R., Rook A.J., 1997. Effect of sward surface height on intake and grazing behaviour by lactating Holstein Friesian cows. *Grass & Forage Science*, 52 (3), 309-321.
- Gordon I.J., 1995. Animal-based techniques for grazing ecology research. *Small Ruminant Research*, 16, 203-214.
- Grant S.A. and Hodgson J., 1986. Grazing effects on species balance and herbage production in indigenous plant communities. In: Gudmundsson O. (ed). *Grazing Research at Northern Latitudes*. pp. 69-77. London: Plenum Publishing Corporation.
- Gusmeroli F.1, Corti M.2, Orlandi D.3, Pasut D.4, Bassignana M., 2005. Produzione e prerogative qualitative dei pascoli alpini: riflessi sul comportamento al pascolo e l'ingestione. *Quaderno SOZOOALP n° 2*.
- Illius, A.W., Gordon, I.J., 1987. The allometry of food intake in grazing ruminants. *Journal of Animal Ecology* 56, 989-999.
- Lamoot I, Meert C., Hoffmann M., 2005. Habitat use of ponies and cattle foraging together in a coastal dune area. *Biological Conservation* 122, 523-536.
- Martin P., Bateson P., 2007. *Measuring Behaviour*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. XI-176.
- Martiniello P., Berardo N., 2005. Phytocoenoses, dry matter yield and nutritive value diversity in mediterranean pastures. *Agricoltura mediterranea*, 135, 19-32.

- Napolitano F., Pacelli C., De Rosa G., Braghieri A., Girolami A. , 2005. Sustainability and welfare of Podolian cattle. *Livestock Production Science*, 92, 323–331.
- Napolitano F., De Rosa G., Grasso F., 2007. Comportamento e benessere degli animali in produzione zootecnica. Aracne Editrice S.r.l., Roma, pp. 185.
- Pratt R. M., Putman R. J., Ekins J. R., Edwards P. J., 1986. Use of habitat by free ranging cattle and ponies in the New Forest, Southern England. *Journal of Applied Ecology*, 23, 539-557.
- Ziliotto U., Scotton M., 1992. Metodi di rilevamento della produttività dei pascoli alpini. *Comunicazioni di Ricerca, ISAF A Villazzano (TN)*, 93/1, 33-42.

Figura 1 - Andamento della biomassa disponibile

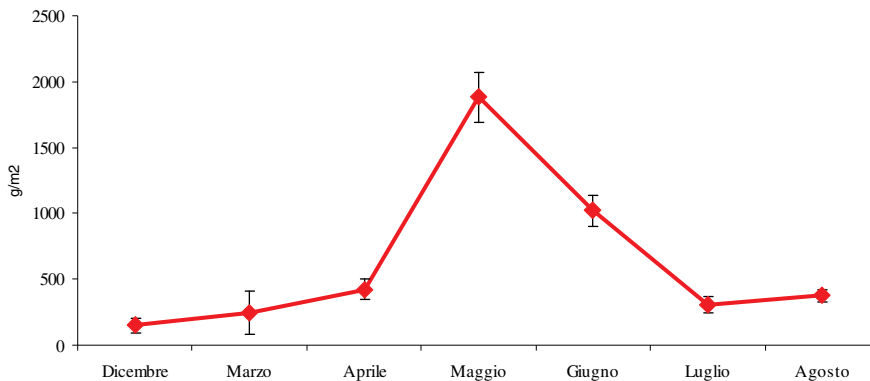


Tabella 1 - Parametri climatici del periodo considerato per il comportamento al pascolo

	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Agosto
UR, %	73,00	74,90	58,40	67,00	23,30	34,40
Temperature, C°	15,00	19,70	24,90	19,50	33,30	28,15

Tabella 3 - Comportamento ingestivo e altezza dell'erba (media \pm E.S.)

	Primavera	Estate	P<
Frequenza morso, n/min	45,79 \pm 2,99	26,75 \pm 5,17	0,01
Grandezza morso, g ss	1,12 \pm 0,15	1,19 \pm 0,11	NS
Tasso di ingestione, g ss /min	54,88 \pm 4,89	32,02 \pm 8,48	0,05
Altezza dell'erba, cm	29,12 \pm 4,29	42,87 \pm 7,43	0,10
Ingestione al pascolo, kg	12,04 \pm 1,22	4,3 \pm 1,37	0,01

Tabella 4 - Coefficienti di correlazione di Pearson (*r*) tra altezza dell'erba e comportamento ingestivo

	<i>r</i>	P<
Frequenza morso, n/min	-0,60	0,001
Grandezza morso, g ss	0,55	0,01
Tasso di ingestione, g ss /min	0,22	NS

Tabella 5 - Composizione floristica percentuale della dieta (media \pm E.S.)

	Primavera	Estate	P<
Graminacee	68,55 \pm 10,67	62,72 \pm 11,93	NS
Leguminose	2,65 \pm 0,71	0,19 \pm 0,70	0,05
Composite	13,06 \pm 7,74	10,56 \pm 8,66	NS
Arbusti	0,87 \pm 0,66	0,01 \pm 0,74	NS
Miscellanea	14,87 \pm 10,95	26,72 \pm 12,24	0,01

PSEUDOMIOTONIA CONGENITA IN BOVINI DI RAZZA CHIANTINA

Testoni S. (1), Boni P. (2), Filippini F. (3), Gentile A. (3),

(1) *Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Padova;*

(2) *Libero professionista, Perugia;*

(3) *Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne – (ANABIC);*

(4) *Dipartimento Clinico Veterinario, Bologna;*

Riassunto – Gli autori descrivono una nuova malattia muscolare del bovino osservata in soggetti di razza Chianina geneticamente correlati. Il quadro clinico è caratterizzato da uno stato di contrattura muscolare generalizzata che compare quando l'animale compie un movimento brusco. L'irrigidimento delle strutture muscolari blocca l'esecuzione del movimento, impedendo il procedere fino a provocare anche la caduta in stato simil-tetnico. I sintomi sono presenti fin dalla nascita e rimangono praticamente invariati per tutta la vita.

Gli esami emato-biochimici routinari mostrano un aumento dei livelli di CK, LDH ed AST. Il lattato levogiro si presenta normale a riposo, mentre tende ad aumentare dopo esercizio fisico associato a presenza di crisi contratturali.

Sulla base dei segni clinici, dei risultati elettromiografici ed istopatologici, gli autori propongono il termine di "Pseudomiopia congenita": al contrario di una miopia vera, infatti, l'esame elettromiografico non mostra alcuna anomalia, nemmeno durante la fase di contrattura muscolare.

In modo simile a ciò che succede nella malattia di Brody dell'uomo, la malattia sarebbe dovuta ad un insufficiente funzionamento della pompa SERCA1 (Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase 1) che, rallentando il recupero del calcio dal sarcoplasma al reticolo sarcoplasmatico, compromette il completamento del ciclo contrazione-rilassamento, ritardando la fase di rilassamento muscolare.

Ricerche in corso sembrano dimostrare una eziologia genetica ereditaria della malattia.

Introduzione

Da diversi anni erano stati evidenziati animali di razza Chianina che presentavano una anomalia nella deambulazione. Le diagnosi ipotizzate dai veterinari, chiamati a darne spiegazione agli allevatori, avevano per lo più ruotato intorno a non precisate sindromi neuro-muscolari, alle quali tuttavia, anche quando si era fatto ricorso ad indagini isto-patologiche, non si era mai riusciti a dare alcun orientamento diagnostico. Con il progressivo aumentare dei casi osservati e diagnosticati emergeva il fatto che i soggetti affetti presentavano ascendenze comuni.

Proprio l'aspetto della possibile natura ereditaria portava ad inserire la malattia fra le priorità dei nostri interessi di studio, già orientati da tempo nel campo delle

malattie genetiche. Vengono ora riportati i risultati di tre anni di indagini che propongono la “Pseudomiopia congenita” come una nuova entità patologica nella nosologia veterinaria.

Aspetti clinici e diagnostici collaterali

La malattia è caratterizzata da uno stato di contrattura muscolare generalizzata che compare solamente quando l'animale compie un movimento brusco (sia spontaneo, che sollecitato), rappresentato, ad esempio, dal passaggio dal passo lento al passo affrettato, oppure dallo scarto improvviso a seguito di uno spavento o di un ostacolo. In stazione, così come durante una deambulazione a passi lenti e regolari, gli animali non mostrano alcun segno, ed il loro tono e trofismo muscolari risultano pienamente nella norma.

La sopraccitata contrattura determina un irrigidimento delle strutture muscolari che, se con animale in fase di spostamento, blocca l'esecuzione del movimento, provocando, di volta in volta andatura rigida, trascinarsi delle unghie al suolo, andatura saltellante tipo “bunny-hopping” degli arti posteriori (Fig. 1), fino anche, in casi estremi, caduta dell'animale in stato simil-tetanic (Figg. 2a-e).

L'episodio contratturale è temporaneo e si risolve spontaneamente e completamente nel giro di pochi secondi. Questo vale anche nel caso di caduta dell'animale, il quale, fatto salvo un leggero stato di turbamento, non mostra alcuna perdita di coscienza; se gli è consentito di riprendersi dallo spavento e di rialzarsi tranquillamente e lentamente, allora esso recupera la stazione senza alcun problema (Fig. 2f); al contrario, se l'alzata avviene con scatti repentini o in situazione di ulteriore spavento, ecco che si possono ripetere gli episodi spastici e l'animale torna a “bloccarsi”, eventualmente ricadendo a terra.

Le crisi contratturali sono spesso accompagnate da una caratteristica retrazione del bulbo oculare, cui si associa la procidenza della terza palpebra. Questo atteggiamento si nota anche quando l'animale reagisce ad uno spavento trovandosi in una situazione statica, sia essa la stazione od il decubito.

Come già accennato, la malattia è presente sin dalla nascita, e mostra, quanto meno per l'esperienza acquisita finora, un grado di gravità praticamente costante nel tempo. Gli esami emato-biochimici routinari mostrano un aumento dei livelli di CK, LDH ed AST, enzimi notoriamente specifici per situazioni di danno muscolare. Il lattato levogiro, anch'esso indicatore di sofferenza muscolare, si presenta normale a riposo, mentre tende ad aumentare dopo esercizio fisico associato a presenza di crisi contratturali. L'esame elettromiografico, condotto nell'esperienza degli autori su 2 vitelli, non mostra alcuna deviazione dalla norma.

Nonostante l'evidente responsabilizzazione del tessuto muscolare (vedi quadro clinico ed esami emato-biochimici), anche l'indagine istopatologica, sia di tipo classico che di tipo istochimica ed immunoistochimico, al pari dell'indagine elettromiografia fornisce scarse informazioni specifiche.

Considerazioni diagnostiche di sindrome, sede e natura

Se da un punto di vista clinico ed emato-biochimico gli elementi a disposizione sono più che sufficienti ad affermare la sede muscolare di questa sindrome locomotoria da “intolleranza allo sforzo fisico”, di scarso ausilio risultano, invece, le indagini elettromiografiche ed istopatologiche. Da queste ultime, soprattutto se comprensive delle più specifiche tecniche istochimiche ed immunoistochimiche, ci si sarebbe potuto aspettare indicazioni più illuminanti sulla natura del processo. E’ lecito pensare, che proprio la scarsità informativa dei reperti istopatologici abbia in passato penalizzato i ricercatori che si erano cimentati nella risoluzione diagnostica del problema.

Nel percorso che ci ha portato gradatamente al chiarimento dell’origine della patologia, avevamo considerato anche malattie di altre specie animali:

- **La miotonia ereditaria:** descritta nel cane di razza Australian Cattle Dog, nella capra di razza Tennessee e nel cavallo (Montagna *et al.*, 2001), per la quale, però, l’esame elettromiografico risulta determinante per l’accertamento diagnostico;
- **L’ ipertonicità muscolare** ereditaria del cane di razza Cavalier King Charles, la cui sintomatologia è estremamente variabile, con aspetti di rigidità muscolare ma anche di collassamento;
- **La mioclonia ereditaria** del bovino di razza Poll Hereford (Healy *et al.*, 2002), caratterizzata da crisi miocloniche che si prolungano anche dopo la sospensione dell’evento eccitatorio e per la quale, però, risulta costante la positività del riscontro elettromiografico;
- **Le miopatie metaboliche**, come le miopatie mitocondriali nel cane e nel gatto e le forme di glicogenosi nel bovino (Angelos *et al.*, 1995), sempre accompagnate, però, da quadri istochimici ben caratteristici;
- **La malattia del muscolo bianco** da carenza di vitamina E e Selenio, per la quale, però, risulta caratterizzante il quadro istopatologico.

Nessuna di queste condizioni era stata in grado di soddisfare le nostre esigenze diagnostiche.

Era a questo punto che, rivoltici finalmente alla medicina umana, notavamo evidenti sovrapposizioni con la c.d. “**Malattia di Brody**” (Brody, 1969), una **rarissima malattia muscolare** ereditaria legata ad un difetto di recupero (“reuptake”) del calcio da parte del reticolo sarcoplasmatico nella fase di rilassamento muscolare. Il tutto dovuto ad un alterato funzionamento della pompa SERCA1 (Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca-ATPase-1), pompa che traghettando il calcio dal sarcoplasma al lume del reticolo sarcoplasmatico determina la riduzione della concentrazione di calcio all’interno del sarcoplasma, avviando il rilasciamento della fibra muscolare (Damiani *et al.*, 1987; Rossi e Dirksen, 2006). Quanto appena ipotizzato trova soddisfazione nella ridotta attività ATPasica dimostrata da pompe SERCA1 estratte dal muscolo semimembranoso di alcuni pazienti e nella ridotta financo soppressa espressione della SERCA1, determinata con tecnica di immunoblotting (Sacchetto *et al.*, 2007).

Proposta nosologica

Sulla base di quanto sopra presentato, e alla luce della assenza, nella nosologia e nella letteratura veterinaria, di precedenti riferimenti specifici, riteniamo che al quadro patologico in questione debba essere assegnato il nome di “Pseudomiotonia Congenita” (Testoni *et al.*, 2007a; Testoni *et al.*, 2007b; Testoni *et al.*, 2008). Quanto sopra in virtù della evidente ipertonìa muscolare (“miotonia”), della assenza di alterazioni elettromiografiche tipiche delle vere miotonie (“pseudo”) e della presenza della malattia sin dalla nascita (“congenita”).

Considerazioni diagnostiche di tipo eziologico

Lo studio delle genealogie (condotto su 15 soggetti affetti), con l’evidenziazione di una stretta comunanza parentale, conferma l’ipotesi ereditaria della malattia (Schema 1). L’omogeneità dell’espressione fenotipica nei malati consente di assegnare al tipo di trasmissione un carattere monogenico recessivo, tipicamente mendeliano. Studi di genetica molecolare, al momento ancora in fase di completamento, consentono di confermare quanto sopra; i soggetti malati si presentano, infatti, omozigoti nei confronti dei marker attualmente in prova, al contrario dei genitori che risultano eterozigoti (Drögemüller, dati non pubblicati).

La “Malattia di Brody”

La “Malattia di Brody” (Brody, 1969) è una rarissima malattia muscolare ereditaria dell’uomo dovuta ad una mutazione del gene ATP2A1, gene codificante la pompa SERCA1 (sarco-endoplasmic reticulum Ca-ATPase-1). Compito della pompa SERCA1 è il recupero del calcio dal sarcoplasma verso il reticolo sarcoplasmatico subito dopo la fase di contrazione muscolare (Damiani *et al.*, 1987). L’abbassamento della concentrazione dello ione calcio all’interno del sarcoplasma consente alla fibra di rilassarsi (Rossi e Dirksen, 2006). In caso di alterato funzionamento della pompa SERCA1 si verifica un rallentamento del ciclo di contrazione-rilassamento, con persistenza dello stato contratturale del muscolo per un tempo prolungato. L’allungamento del tempo necessario al recupero del calcio può dipendere o da una riduzione numerica di pompe SERCA1, oppure da un loro difettoso funzionamento.

Clinicamente la malattia si esprime con rigidità muscolare, non dolente, scatenata da esercizio fisico vigoroso e/o improvviso, la quale scompare dopo pochi secondi di riposo. La sintomatologia non sembra evolvere nel tempo ed a riposo i pazienti sono completamente normali (Brody, 1969; Oddermat *et al.*, 1996).

Il motivo per cui le crisi contratturali compaiono esclusivamente a seguito di un brusco ed improvviso movimento e non a riposo o durante un esercizio svolto lentamente, è dovuto al fatto che solamente le fibre muscolari di tipo II, quelle, cioè, deputate alla contrazione rapida e impegnate prevalentemente in attività fasiche, sono dipendenti dalla pompa SERCA1 (isoforma 1) per il loro rilasciamento. Al contrario, le fibre muscolari di tipo I, quelle a contrazione lenta, impegnate prevalentemente in attività toniche e resistenti alla fatica, affidano il

compito del reuptake calcico ad un'altra isoforma delle pompe SERCA, e precisamente alla SERCA2 (isoforma 2), codificata peraltro da un gene differente (MacLennan, 2000; Rossi e Dirksen, 2006).

La “Malattia di Brody” non trova precedenti segnalazioni di casistica spontanea nella letteratura veterinaria; un difetto di rilassamento con meccanismo sovrapponibile è descritto in mutanti sperimentali di pesci farfalla (zebrafish accordion mutants, Hirata *et al.*, 2004) ed in topi transgenici (Pan *et al.*, 2003).

Considerazioni conclusive

Con questo articolo abbiamo voluto presentare anche agli allevatori e ai tecnici delle razze italiane da carne una malattia del bovino mai riportata nella letteratura veterinaria e per la quale, sulla base delle caratteristiche cliniche e diagnostico collaterali, proponiamo il nome di “Pseudomiopia Congenita”.

Si tratta di una miopia a carattere contratturale, basata sull’alterazione del ciclo contrazione-rilassamento; più precisamente, prolungamento della prima fase (contrazione) per ritardato avvio della seconda (rilassamento). Come nella “Malattia di Brody” dell’uomo, primariamente responsabile di tutto ciò è la pompa SERCA1, la cui disfunzione rallenta il trasporto del calcio dal sarcoplasma al tubulo sarcoplasmatico, ritardando, di conseguenza, il distacco dei miofilamenti actina e miosina e quindi il rilasciamento della fibra muscolare.

La stretta comunanza di linee genetiche dei soggetti affetti - per il momento solo di razza Chianina - e le indagini biomolecolari (in fase di completamento), consentono di affermare la natura genetica della malattia, e il carattere recessivo mendeliano della ereditarietà. Tutto ciò in accordo con quanto già conosciuto nell’uomo e nel pesce farfalla per i quali un analogo disturbo della pompa SERCA1 è dovuto ad una mutazione del gene codificante la pompa, e precisamente il gene ATP2A1.

Tutto quanto sopra, non solo per doveroso aggiornamento nosologico, ma anche per dare soddisfazione a quei veterinari pratici che già in passato si sono dovuti fermare ad una semplice diagnosi di sindrome e per sollecitare gli stessi ad inserire - soprattutto per soggetti di razza Chianina - la “Pseudomiopia Congenita” nel ragionamento diagnostico differenziale delle intolleranze allo sforzo fisico caratterizzate da miopia.

Data l’importanza che il fenomeno riveste nell’allevamento sia di riproduttori che di capi da macello, la disponibilità del test di diagnostica sul DNA, pur essendo ancora in fase di sperimentazione e di finale messa a punto, è già stato inserito sperimentalmente nei protocolli dell’ANABIC per la scelta dei soggetti candidati al performance test (per la sola razza Chianina). La Commissione Tecnica Centrale nella riunione del 23 Maggio 2008 ha deliberato infatti che i soggetti portatori sani (riconosciuti come tali dal test) non siano ammessi al Centro Genetico. In tal modo sarà possibile evitare il diffondersi di tale patologia.

Bibliografia

- Angelos S., Valberg S.J., Smith B.P., McQuarrie P.S., Shanske S., Tsujino S., DiMauro S. e Cardinet G.H. (1995) “*Myophosphorylase deficiency associated with rhabdomyolysis and exercise intolerance in 6 related Charolais cattle*” *Muscle and Nerve*, **18**:736-740.
- Brody I.A. (1969) “*Muscle contracture induced by exercise. A Syndrome Attributable to Decreased Relaxing factor*” *The New England Journal of Medicine*, **281**(4):187-192.
- Damiani E., Margreth A., Furlan A., Dahms A.S., Arnn J. e Sabbadini R.A. (1987) “*Common structural domains in the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase and the transverse tubule Mg-ATPase*” *The Journal of Cell Biology.*, **4**(3):461-472.
- Healy P.J., Pierce K.D., Dennis J.A., Windsor P.A. e Schofield P.R. (2002) “*Bovine Myoclonus: Model of Human Hyperekplexia (Startle Disease)*” *Movement Disorders*, **17**(4):743-747.
- Hirata H., Saint-Amant L., Waterbury J., Cui W., Zhou W., Li Q., Goldman D., Granato M. e Kuwada J.Y. (2004) “*Accordion, a zebrafish behavioral mutant, has a muscle relaxation defect due to a mutation in the ATPase Ca²⁺ pump SERCA1*” *Development*, **131**:5457-5468 .
- MacLennan D.H. (2000) “*Ca²⁺ signalling and muscle disease*” *European Journal of Biochemistry*, **267**:5291-5297.
- Margreth A., Damiani E. e Tobaldin G. (1993) “*Ratio of dihydropyridine to ryanodine receptors in mammalian and frog twitch muscles in relation to mechanical hypothesis of excitation-contraction coupling*” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **197**(3):1303-1311.
- Montagna P., Liguori R., Monari L., Strong P.N., Riva R., Di Stasi V., Gandini G. e Cipone M. (2001) “*Equine muscular dystrophy with miotonia*” *Clinical Neurophysiology*, **112**:294-299.
- Oddermat A., Taschner P.E.M., Khanna V.K., Busch F.M., Karpati G., Jablecki C.K., Breuning M.H. e MacLennan D.H. (1996) “*Mutations in the gene-encoding SERCA1, the fast-twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase, are associated with Brody disease*”. *Nature genetics*, **14**:191-194.
- Pan Y., Zvaritch E., Tupling A.R., Rice W.J., de Leon S., Rudnicki M., McKerlie C., Banwell B.L. e MacLennan D.H. (2003) “*Targeted disruption of the ATP2A1 gene encoding the Sarcoendoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase Isoform 1 (SERCA1) impairs diaphragm function and is lethal in neonatal mice*” *The Journal of Biological Chemistry*, **278**: 13367-13375.
- Rossi A.E. e Dirksen R.T. (2006) “*Sarcoplasmic reticulum: the dynamic calcium governor of muscle*” *Muscle and Nerve*, **33**:715-731.
- Sacchetto R., Volpe P., Damiani E. e Margreth A. (1993) “*Postnatal development of rabbit fast-twitch skeletal muscle: accumulation, isoform transition and fibre distribution of calsequestrin*”
- *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **14**(6):646-653.

- Sacchetto R., Testoni S., Gentile A., Mascarello F. (2007) “SERCAI activity in the Congenital Pseudo-myotonia of Chianina cattle” IV Meeting Istituto Interuniversitario di Miologia (IIM), 21-24/11/2007, Roma, Scuola dello Sport del CONI, pag.20-21.
- Testoni S., Boni P., Gentile A. (2007a) “Congenital Pseudomyotonia in Chianina Cattle” Proceedings VIII Middle European Buiatric Congress, 5-8/06/2007, Gura Humorului, Romania, pag. 59.
- Testoni S., Liguori R., Mascarello F., Pietra M., Gentile A. (2007b) “Congenital Pseudo-myotonia in Chianina cattle” IV Meeting Istituto Interuniversitario di Miologia (IIM), 21-24/11/2007, Roma, Scuola dello Sport del CONI, pag.20.
- Testoni S., Boni P., Gentile A. (2008) “Congenital Pseudomyotonia in Chianina Cattle” The Veterinary Record, accepted for publication

Fig. 1: l’animale, sollecitato ad accelerare il passo irrigidisce l’andatura e procede con un andatura saltellante tipo “bunny-hopping”.



Schema 1: studio genealogico di 15 soggetti affetti da Pseudomiotonia Congenita.

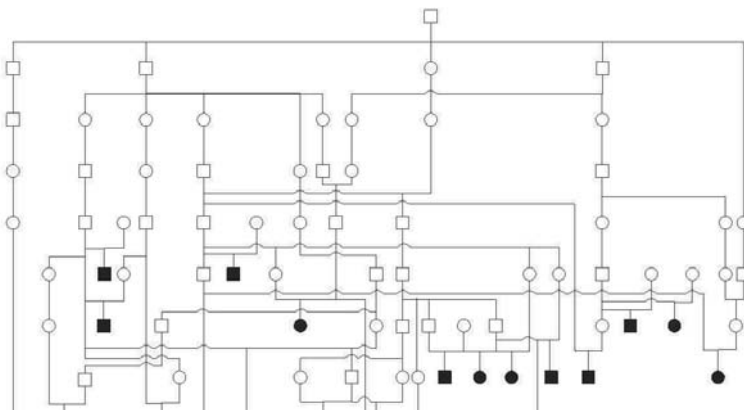


Fig. 2: l'animale, sollecitato a correre si blocca e, impedito nel procedere, cade al suolo in stato simil-tetnico (a-e). Quindi, ripresosi dallo spavento, si rialza (f).



INDAGINE SU ENDOPARASSITI IN BOVINI DI RAZZA CHIANINA ALLEVATI NELL'ITALIA CENTRALE

**Mani D. (1), Magi M. (2), Macchioni F. (2),
Prati M.C. (3), Dell'Omodarme M. (3) Ferruzzi G. (1)**

*(1) Dipartimento di Agronomia e Gestione dell'Agroecosistema, Sezione Scienze
Zootecniche-*

Università di Pisa-Via S. Michele degli Scalzi, 56124, Pisa.

*(2) Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Settore
di Parassitologia- Università di Pisa-Viale delle Piagge, 56124, Pisa.*

*(3) Scuola Normale Superiore di Pisa-INFN Sezione di Pisa, Largo B. Pontecorvo,
56127, Pisa.*

Riassunto – Obiettivo della ricerca è stato quello di condurre un'indagine parassitologica in due aziende zootecniche dell'Italia centrale (Toscana) dove vengono allevati bovini da carne. I parassiti gastrointestinali, infatti, possono provocare negli animali da reddito alcune manifestazioni patologiche in grado di determinare perdite nella produttività economica della carne. Durante il triennio 2004-2006, sono state effettuate analisi coprologiche, durante la stagione autunnale al ritorno degli animali dal pascolo, su un campione complessivo di 173 bovini di razza Chianina allevati in due aziende della Val Tiberina secondo la linea vacca-vitello. La ricerca ha messo in evidenza i parassiti maggiormente presenti negli allevamenti monitorati e i risultati relativi al miglioramento dello stato sanitario in seguito a trattamenti antiparassitari. Gli interventi specifici effettuati hanno manifestato la loro efficacia in un breve intervallo di tempo.

Parole chiave: Parassiti, Analisi coprologiche, Pascolo, Razza Chianina, Prevenzione.

Introduzione

In un allevamento estensivo la misura preventiva più importante contro i parassiti è data dalla gestione del pascolo. Per limitarne la presenza possono essere usate alcune tecniche di prevenzione, come l'utilizzo alternato dei terreni con la produzione di fieno, insilati, il taglio delle essenze infestanti che rimangono dopo il pascolamento, l'effettuazione di una leggera lavorazione. In questo modo gran parte dei parassiti presenti nei pascoli sono allontanati con il raccolto, distrutti dalle diverse tecniche di conservazione degli alimenti e per la minor carica parassitaria, gli animali che si troveranno a pascolare nei periodi successivi, andranno incontro ad una minore infestazione. Un effetto simile si ottiene facendo pascolare su uno stesso cotico prima i vitelli, che eliminano uova di parassiti, e in seguito le vacche che possiedono una difesa immunitaria sviluppata e risultano perciò più resistenti. Questa pratica ha un maggior effetto, quando il pascolo viene utilizzato da animali

di specie diverse, come ad esempio gli ovini ed i cavalli, in quanto la maggior parte dei parassiti possono riprodursi in una sola di queste specie animali. Inoltre i giovani animali, dovrebbero pascolare preferibilmente dove l'anno precedente era stato prodotto fieno, e solo come seconda scelta, in quelli dove l'anno precedente avevano pascolato gli animali adulti. Qualsiasi misura preventiva adottata deve considerare con attenzione quali sono i momenti in cui si avranno dei picchi infettanti: un primo si ha durante l'estate quando le uova dei parassiti, assunte all'inizio della stagione del pascolo, sviluppano larve che diventano adulti sessualmente maturi e producono notevoli quantità di uova. Il picco produttivo può variare secondo le condizioni climatiche, da metà giugno (in annate umide), fino all'inizio di settembre (nelle estati secche). In questa fase, per impedire la reinfestazione degli animali, è indicato un cambio di pascolo assieme ad un trattamento antiparassitario, in modo da non trasferire tutta la carica parassitaria sul nuovo cotico (Ambrosi, 1995). Per effettuare una lotta strategica sono a disposizione sul mercato molti prodotti antiparassitari: i diversi principi attivi sono commercializzati sotto forma di soluzioni orali, polvere o pellet (da somministrare con gli alimenti), come sostanze iniettabili o per uso esterno. La scelta del farmaco da usare e la sua formulazione dipendono dal momento in cui si vuole effettuare il trattamento e da quanto semplice risulta l'accessibilità agli animali. Un'attenta osservazione dei soggetti è indispensabile per decidere quando si deve ricorrere ad un trattamento antiparassitario, in quanto, con la comparsa dei primi sintomi di malattia i danni si sono già verificati. Un trattamento preventivo è consigliabile quando tutti gli anni gli animali più giovani usano gli stessi pascoli, e per quei cotici in cui nelle precedenti annate si sono puntualmente verificate infestazioni parassitarie. Nei casi incerti un esame coprologico può determinare velocemente e con certezza la causa della malattia parassitaria. Il momento ottimale per il primo trattamento è in piena estate, dopo circa sei/otto settimane dalla messa al pascolo. In questo periodo, infatti, in gran parte le larve primaverili si sono sviluppate in adulti e in questo stadio risultano attaccabili. Gli animali, due giorni dopo il trattamento, dovrebbero essere trasferiti su nuovi pascoli, in modo da essere protetti nei confronti di una possibile reinfestazione. Un secondo trattamento sanitario dovrebbe essere effettuato al ritorno dai pascoli (ad inizio inverno), garantendo inoltre acqua pulita e alimentazione adeguata, per evitare il rischio che altre infestazioni parassitarie si propaghino durante la permanenza in stalla.

Materiali e metodi

Sono stati effettuati controlli endoparassitari attraverso analisi coprologiche che hanno interessato un pool di animali (in totale 173) con lo scopo di determinare la situazione parassitologica di animali allevati in due aziende zootecniche collocate nella provincia di Arezzo. Gli animali sono mantenuti al pascolo indicativamente dal mese di Aprile a Novembre (secondo l'andamento climatico stagionale); durante l'inverno, sono mantenuti in stalla, alimentati con fieno, insilato di mais e orzo prodotti in azienda, oltre a favino, soia e integrazioni vitaminico-minerali.

L'indirizzo produttivo in entrambe le aziende è finalizzato alla linea vacca-vitello; in una azienda, lo scopo principale è la vendita del vitello allo svezzato, mentre nell'altra avviene anche la fase di ingrasso con animali, destinati alla macellazione, venduti sia alla G.D.O. che con vendita diretta.

La raccolta dei campioni effettuata per tre anni (2004, 2005, 2006), su animali scelti tramite il sistema anagrafico aziendale (in base al sesso e all'età) è avvenuta una volta l'anno al termine del periodo del pascolamento nella seconda metà del mese di novembre. Le operazioni in stalla sono state svolte da personale tecnico che ha posto il materiale raccolto in sacchetti di plastica sigillati e contrassegnati con i dati anagrafici del soggetto analizzato. I campioni sono stati analizzati presso il settore di parassitologia Facoltà di Medicina Veterinaria Pisa mediante esami copromicroscopici qualitativi quali flottazione, sedimentazione ed esami quantitativi tramite la tecnica McMaster.

Le soluzioni acquose utilizzate per la flottazione sono state: soluzione satura di cloruro di sodio (peso specifico 1,200) che ha messo in evidenza oocisti coccidiche, uova di cestodi, uova di nematodi, e la soluzione iodio mercurata con maggior peso specifico (1,450) che ha messo in evidenza uova di Trematodi come *Dicrocoelium dendriticum*. La sedimentazione rapida ha permesso di evidenziare altri tipi di uova di trematodi come *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp che con la soluzione iodo mercurata sono risultate coartate. E' stato fatto anche un esame quantitativo secondo la metodica McMaster, per stimare il numero di uova per grammo di feci di strongili gastrointestinali e oocisti coccidiche. Infine è stata effettuata la ricerca di larve di strongili polmonari tramite sedimentazione con l'apparato di Baerman (Ambrosi M., 1995). Nell'Azienda Pieve gli animali hanno subito due trattamenti l'anno (a primavera e in inverno), durante la permanenza in stalla, con ivermectina (ivomec); nell'Azienda Fresciano gli animali, nonostante le indicazioni fornite dal servizio veterinario, probabilmente non sono stati trattati o sono stati sottoposti a trattamento solo in modo parziale.

Discussione dei risultati

In concomitanza con l'inizio di un progetto A.R.S.I.A. finalizzato al miglioramento agronomico dei pascoli in Val Tiberina sono state effettuate analisi coprologiche alla fine del 2003 con lo scopo di studiare il grado di infestazione parassitaria di bovini di razza Chianina allevati in due aziende zootecniche. Le prime analisi sono state condotte su un numero limitato di animali, con lo scopo soltanto di saggiare la presenza di parassiti nelle mandrie delle due aziende; nei tre anni successivi sono state condotte le analisi su un numero più elevato di capi. Durante i prelievi coprologici effettuati nel primo anno (2004) nell'azienda "Fresciano" (figura 1), sono stati esaminati 13 animali, presenti in stalla da due settimane dopo aver trascorso 7 mesi al pascolo. In prevalenza si trattava di adulti quasi tutte femmine, del toro e di un numero ridotto di vitelli. I risultati relativi al 2004 hanno manifestato una presenza di diverse specie di parassiti: Coccidi, Strongili gastrointestinali e *Paramphistomum* spp che sono stati trovati in alte percentuali

(rispettivamente nel 85%, 77% e 69%), mentre *F. hepatica*, ha registrato valori inferiori (38%). Nel corso dei successivi due anni (2005 e 2006) sono stati monitorati un numero più consistente di capi della mandria rispettivamente 40 e 30. In questo periodo di tempo gli Strongili gastrointestinali sono diminuiti fino a raggiungere il 33% (media nel biennio), così come *F. hepatica*, che è scesa fino ad una media del 10%, mentre *D. dendriticum* è apparso con prevalenza media del 24%. *Paramphistomum* spp. è stato l'unico parassita che ha mantenuto la sua presenza in maniera costante nel corso dei tre anni di osservazione (percentuale media 90%). Nella seconda azienda "Pieve" (figura 2) già il primo anno di ricerca ha messo in evidenza una minor presenza percentuale di tutti i parassiti rispetto all'azienda precedente; quelli maggiormente presenti sono stati i Coccidi che hanno raggiunto una prevalenza media sul triennio pari al 33%. Nel 2005 abbiamo assistito a una notevole crescita degli Strongili gastrointestinali che hanno raggiunto il 72%, al contrario non si ha più presenza di *F. hepatica*, mentre è stata rilevata per la prima volta la presenza di uova di *Moniezia benedeni* (3%). Nel corso dell'ultimo anno, invece, sono diminuiti fino a una prevalenza del 19% gli Strongili gastrointestinali e *D. dendriticum* (prevalenza dell'8%); i Coccidi hanno avuto un incremento (fino al 39%), così come *F. hepatica* (fino all'11%).

Figura 1: Valori percentuali dei parassiti presenti in Azienda Fresciano

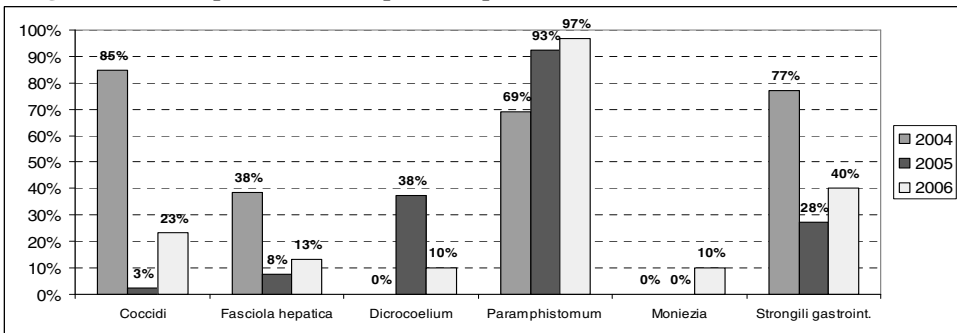
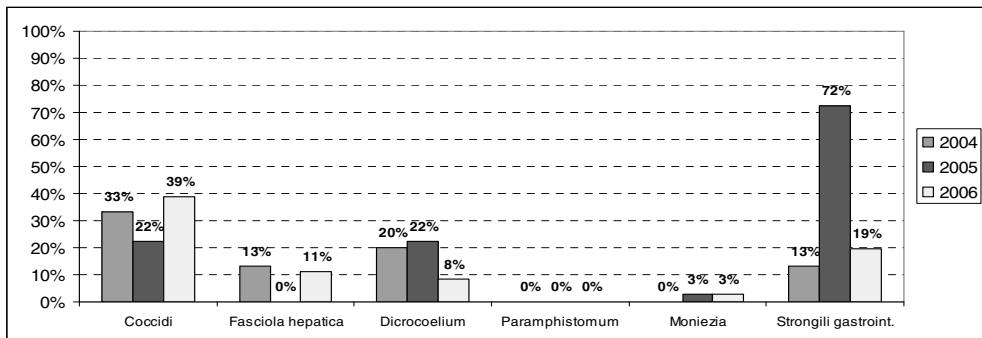


Figura 2: Valori percentuali dei parassiti presenti in Azienda Pieve



Conclusioni

L'allevamento estensivo dei bovini da carne rappresenta una delle forme più idonee per la valorizzazione del territorio, da un punto di vista economico, quale importante fonte di reddito, e da un punto di vista ambientale, per gli effetti positivi che le superfici a pascolo hanno sulla salvaguardia dei terreni declivi. Il miglioramento agronomico dei pascoli può portare a notevoli vantaggi per gli allevatori perché consente di migliorare le produzioni quanti-qualitative dei cotici e conseguentemente poter aumentare il numero di capi allevati. Allo stesso tempo è fondamentale progettare adeguati controlli sanitari degli animali, che devono essere considerati di importanza primaria per i riflessi che possono avere sulle performance produttive e per non rendere vani i vantaggi derivanti dal loro benessere quando utilizzano un allevamento di tipo estensivo.

Questo lavoro ha voluto mettere in evidenza quali strategie si rendono necessarie nella gestione di un pascolo e quale sono le tipologie di parassiti maggiormente presenti in un allevamento bovino. Inizialmente entrambe le aziende presentavano una situazione abbastanza critica, sia per la numerosità che per la tipologia di parassiti trovati sul pool di animali monitorati; tuttavia, specialmente nell'azienda Pieve, è stato possibile debellare o quantomeno controllare la carica elmintica negli anni successivi (con l'eccezione degli Strongili gastrointestinali che hanno raggiunto la prevalenza del 72% nel 2005), attraverso opportune terapie sanitarie (ivermectina) effettuate in stalla in due momenti: durante l'inverno e prima dell'inizio della stagione di pascolo. Nell'Azienda Fresciano, invece, gli animali, probabilmente non trattati o trattati non regolarmente, hanno mostrato nel corso degli anni cariche elmintiche superiori, con differenze numeriche legate all'utilizzazione dei pascoli e alle condizioni meteorologiche stagionali.

E' evidente, che la completa eradicazione dei parassiti è difficilmente ottenibile, tuttavia, l'obiettivo per un allevatore deve essere quello di mantenere la carica parassitaria più bassa possibile, seguendo delle adeguate strategie di difesa con interventi non solo sugli animali, ma anche sui cotici, poiché il ciclo biologico di molto parassiti viene completato in ospiti intermedi che vivono nei pascoli.

Bibliografia

- Pampiglioni S., Canestri Trotti G., 1999, Guida allo studio della Parassitologia, Società Editrice Escudapio, Bologna.
- Ambrosi M., 1995, Parassitologia zootecnica, Edagricole, Bologna, 21-42,100-114.
- Casarosa L., 1980, Parassitologia degli animali domestici, Edizioni Medico Scientifiche, Bologna, 3-18.
- Mehlhorn H., 1998, Parassitology in Focus Fact and Trends, Springer- Verlag.
- Urquhart M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Parassitologia veterinaria, UTET, Torino, 1998.

Ricerca finanziata da A.R.S.I.A. nell'ambito del progetto "Valorizzazione della zootecnia Toscana attraverso l'ottimizzazione dell'utilizzazione delle risorse pascolive in aree collinari e montane".

LA VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA PRODUTTIVA IN ALLEVAMENTI BOVINI DI RAZZA CHIANINA: IL CASO DELL'ALTO TEVERE UMBRO.

Pauselli M. (1), Cucchiarini E. (1), Petrini A. (2), Morbidini L. (1)

*(1) Dipartimento di Biologia Applicata - Università degli Studi di Perugia,
Borgo XX Giugno, 74, 06121 Perugia*

*(2) Consorzio di Tutela del Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale, Via B.
Simonucci, 3 06135 Ponte San Giovanni - Perugia*

Riassunto – Scopo del lavoro è stato valutare la possibilità di mettere a confronto i dati aziendali con quelli relativi alle performance di macellazione dei vitelloni maschi conferiti al Consorzio di Tutela dell'IGP “Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale” ed al Consorzio Carni Bovine Italiane, al fine di individuare eventuali punti critici del sistema nell'ambito di un campione di tredici allevamenti a ciclo chiuso dell'Alta Valtiberina umbra. L'analisi delle componenti principali ha messo in evidenza come il primo fattore individuato, che spiega il 55,73% della varianza totale sia correlato positivamente con l'AMG della carcassa ed il tenore proteico delle razioni adottate nella fase di accrescimento e negativamente correlato con il tenore in NDF delle stesse nel medesimo periodo, mentre il secondo fattore, che spiega il 27,17% della varianza totale, sia positivamente correlato con il punteggio di conformazione e l'AMG della stessa. Ne scaturisce che tale razza si avvantaggi di diete ad alto titolo proteico e basso livello di fibra nelle fasi di accrescimento, ma soprattutto come la tecnica di rilevamento dei dati e la loro elaborazione possa essere impiegata convenientemente in programmi di assistenza tecnica.

Parole chiave: Razza Chianina; Strategie alimentari; Efficienza tecnica.

Introduzione

Nell'ambito dell'allevamento bovino da carne la valutazione dell'efficienza risulta essere estremamente complessa e di difficile definizione a causa dei pochi dati certi disponibili, anche se molto più semplificata, rispetto all'allevamento bovino da latte, appare essere la tecnica di alimentazione. Va, inoltre, considerato come a differenza di quanto avviene per il settore latte la valutazione dell'efficienza della razione adottata risulta essere difficile in quanto la stima degli accrescimenti medi giornalieri non viene utilizzata se non a fine ciclo. Pertanto l'adozione di adeguati piani di assistenza tecnica non può che passare attraverso strumenti in grado di individuare i punti critici dell'allevamento, impiegando i pochi dati disponibili e certi quali i pesi delle carcasse, le età di macellazione e le indicazioni che scaturiscono dalle poche informazioni relative alle caratteristiche dei foraggi e dei

concentrati adottati dai singoli allevatori. In questo contesto, scopo del presente lavoro è stato appunto quello di individuare gli eventuali punti critici del sistema, partendo da informazioni certe quali i pesi delle carcasse, le età di macellazione degli animali allevati e le indicazioni ricevute dall'allevatore stesso circa la composizione delle razioni, in un'area ristretta quale quella dell'Alto Tevere Umbro, di allevamenti di bovini di razza Chianina i cui vitelloni sono stati conferiti al Consorzio Produttori Carni Bovine Pregiate delle Razze Italiane e al Consorzio di Tutela del Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale.

Materiali e metodi

Oggetto dell'indagine è stato un campione di 13 allevamenti a ciclo chiuso situati nell'Alta Valle del Tevere. Agli allevatori è stato sottoposto un questionario volto ad individuare le caratteristiche generali dell'allevamento ed i parametri alimentari adottati. Relativamente a questi ultimi, si è provveduto, in un primo momento, a stimare la quantità di foraggi e concentrati somministrati nelle fasi di accrescimento e finissaggio e per questi ultimi la loro composizione, se prodotti in azienda, oppure è stato prelevato il cartellino mangimistico, se acquistati come mangimi industriali. Per quanto riguarda i foraggi ci si è limitati alla tipologia di foraggio somministrato e, per la medica, il taglio di fieno impiegato. In un secondo momento per i concentrati composti integrati di origine industriale è stata richiesta ed ottenuta la loro composizione nutritiva da parte delle ditte produttrici. Sulla base di queste informazioni e dei parametri chimico-nutrizionali standard dei foraggi e dei concentrati semplici è stato possibile, per ciascun allevamento e per ciascuna fase di allevamento, ricostruire la composizione chimico-nutrizionale della razione adottata tenendo conto di una capacità di ingestione pari al 2,3% e al 2% del Peso Vivo, rispettivamente per le fasi di accrescimento e finissaggio. I parametri alimentari considerati sono risultati essere pertanto: UFC/S.S. (n.); PG/S.S. (%); PDIN/S.S. (g/kg); PDIE/S.S. (g/kg); NDF/S.S. (%); Amido/S.S. (%); NSC/S.S. (%). I parametri produttivi considerati, messi a disposizione dal Consorzio di Tutela del Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale e relativi agli allevamenti considerati, sono stati: punteggio di conformazione ed adiposità della carcassa secondo la griglia SEUROP; peso della carcassa; età di macellazione.

Ogni classe di valutazione della conformazione e di adiposità della carcassa sono state convertite in tre numeri successivi ottenendo così 18 punteggi di conformazione e 15 di adiposità. Dal peso della carcassa e dall'età di macellazione è stato desunto l'accrescimento medio giornaliero (AMG carcassa) così come riportato da Fioroni A., (2005).

Per ogni soggetto di ciascun allevamento macellato dal gennaio 2004 al febbraio 2007, sono state valutate le performance alla macellazione e le caratteristiche delle razioni adottate da ciascun allevamento a cui apparteneva il soggetto.

Il *data-set* così ottenuto è stato sottoposto all'analisi delle Componenti Principali al fine di individuare i parametri che meglio potessero spiegare la variabilità del

sistema. In un secondo momento i dati relativi alle performance produttive sono stati sottoposti ad analisi della varianza che prevedeva il seguente modello:

$Y_{ijk} = \mu + \alpha\beta_{ij} \gamma_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$ dove:

Y_{ijk} = parametro sperimentale rilevato;

$\alpha\beta_{ij}$ = interazione fra l' i -esimo livello proteico nella fase di accrescimento (<14,0%, 14,1-15,5% >15,5%) ed il j -esimo livello di NDF nella fase di accrescimento (<35,4%; 35,5 – 47,5%; >47,5%) nella razione;

γ_{ijk} = coefficiente di regressione lineare per l'età di macellazione;

ε_{ijk} = errore sperimentale.

Discussione dei risultati

Gli apporti alimentari presi in considerazione riguardano le fasi di accrescimento e di finissaggio a causa della oggettiva difficoltà riscontrata nel ricostruire le razioni impiegate nella fase di svezzamento. In Tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche delle razioni nella fase di accrescimento. I valori medi riportati sembrano indicare una certa adeguatezza delle razioni adottate rispetto a quelli che sono gli standard proposti sia dalla scuola francese (INRA, 1988) sia alle indicazioni scaturite dalle diverse ricerche effettuate in Italia volte ad individuare gli standard nutrizionali dei bovini da carne italiani (Antongiovanni e coll., 1990; Franci e coll. 1997). Tuttavia i valori relativi ai minimi e massimi, mettono in evidenza come, soprattutto per il tenore in proteine grezze della razione ed il contenuto in NDF della stessa, sia presente una forte variabilità fra i 13 allevamenti oggetto dell'indagine. In particolare il tenore minimo in proteina grezza della razione è pari al 12,65%, e appare decisamente basso per la fase considerata, mentre il valore massimo (15,90%) sembra essere quello considerato come riferimento. Il livello in NDF medio (41,51±8,08) delle razioni appare alto a causa dell'elevato rapporto foraggi/concentrati adottato. Infatti l'apporto di concentrato stimato non supera mai l'1,2% del peso vivo dell'animale con punte minime dello 0,8%, valori decisamente bassi per avere performance produttive soddisfacenti. Conseguentemente anche il livello di amido appare basso (22,94±4,57%/s.s.); va tuttavia considerato come a falsare questo parametro è il livello dell'11% riscontrato in una razione dove è stato adottato un mangime composto integrato industriale caratterizzato da un elevato contenuto di emicellulose e quindi di fibra molto digeribile piuttosto che di amido.

Le razioni adottate nella fase di finissaggio (Tabella 2) risultano essere poco diverse da quelle utilizzate nella fase di accrescimento e ciò è sostanzialmente dovuto al fatto che in gran parte degli allevamenti non esiste una distinzione delle due fasi anche se mediamente gli apporti considerati risultano essere abbastanza appropriati per il periodo considerato. Anche in questo caso il livello minimo di amido (9,88%) è la risultante dell'impiego dello stesso concentrato industriale impiegato nella fase precedente e caratterizzato da un elevato livello di emicellulose.

I risultati relativi alle performance medie dei maschi (tabella 4) mettono in evidenza come gli animali venduti come IGP abbiano presentato un punteggio di conformazione della carcassa compreso fra R+ ed U ed un punteggio di ingrassamento compreso fra 3-e 2+; l'età media di macellazione è risultata di $580,78 \pm 78,09$ giorni, pari a poco più di 19 mesi, ed è da considerare nella media dei vitelloni macellati per l'IGP, mentre gli estremi di 370 e 724 giorni appaiono come realtà limite. Sicuramente interessante appare l'AMG della carcassa, superiore ai valori medi dell'intera popolazione dei vitelloni macellati come IGP (Tabella 3) nel corso del 2005 (Mengoli S., 2005).

Nella valutazione dell'efficienza produttiva degli allevamenti costituenti il campione, uno degli strumenti impiegati è stato il confronto delle performance produttive di ogni allevamento con quelle medie del campione e dell'intera popolazione. In particolare, confrontando l'AMG della carcassa di ogni singolo allevamento con il valore medio dell'intera popolazione di vitelloni IGP (Mengoli S., 2005) (Figura 1) si osserva come per gli allevamenti che si posizionano al di sotto del valore medio sia possibile impostare un adeguato piano di assistenza tecnica. Il limite di tale tipo di analisi è quello di non evidenziare i punti critici che influenzano negativamente le performance produttive degli animali allevati nei diversi allevamenti. In base alle informazioni raccolte, l'analisi delle Componenti Principali ha permesso di individuare i parametri che meglio descrivono la variabilità presente nell'intera popolazione dei dati riferiti ai soggetti maschi macellati come IGP da gennaio 2004 a febbraio 2007. L'analisi delle Componenti Principali ha permesso di identificare nel tenore proteico, nell'NDF della razione nella fase di accrescimento, nei valori relativi all'AMG della carcassa e nella conformazione della stessa, i parametri che meglio spiegano la variabilità del sistema.

L'analisi delle Componenti Principali ha così permesso di identificare due fattori che da soli spiegano l'82,90% della variabilità del sistema. Il primo fattore che spiega il 55,73% della varianza totale, è risultato essere correlato positivamente con il tenore proteico della razione nella fase di accrescimento (0,94) e negativamente correlato con il tenore in NDF della stessa (-0,93), per quanto riguarda i parametri alimentari è positivamente correlato con l'AMG della carcassa (0,46). Il secondo fattore (Factor 2), che spiega soltanto il 27,17% della varianza totale, è risultato essere positivamente correlato sia con l'AMG della carcassa (0,67), sia con il punteggio di conformazione della stessa (0,92). Conseguentemente sul quadrante delimitato dai valori positivi sia del Fattore 1 che del Fattore 2 del grafico riportato in Figura 3, si ritrovano i soggetti appartenenti a quegli allevamenti che adottano razioni con un buon contenuto proteico ed un basso contenuto in NDF nella fase di accrescimento, con buoni accrescimenti medi giornalieri ed un buon punteggio di conformazione. Nel quadrante opposto si ritrovano i soggetti con accrescimenti medi giornalieri della carcassa inferiori alla media e con razioni caratterizzate da un basso tenore proteico ed un elevato tenore in fibra. In Tabella 4, sono riportate le medie stimate degli AMG della carcassa in

funzione della combinazione fra livello in NDF (basso, medio, alto) e PG (basso, medio, alto). Il confronto fra le razioni adottate nei diversi allevamenti ha permesso di evidenziare come la combinazione che sembra dare i migliori risultati sia quella alto livello proteico e basso livello in fibra (903 ± 28 g/d), mentre le peggiori risultano essere quelle che presentano un medio ed alto livello di fibra o basso livello proteico e basso livello di fibra, fatta eccezione per la combinazione medio livello proteico e medio livello in fibra. Tali risultati confermano quanto già osservato da Antongiovanni et al. (1988) e da Giorgetti e coll. (1995) circa i più elevati fabbisogni proteici della razza Chianina rispetto agli standard indicati dall'INRA per le razze Francesi.

Un altro aspetto da considerare è che potrebbe in qualche misura giustificare le buone performance, comunque registrate dagli animali allevati in quegli allevamenti che adottano livelli proteici compresi fra il 14,1 e 15,5% e tenori in NDF compresi fra il 35,5 e 47,5% sulla s.s. della razione, potrebbe essere attribuita al positivo effetto dell'integrazione della razione con fonti proteiche caratterizzate da una elevata degradabilità come ad esempio il favino sulla digeribilità della fibra del foraggio somministrato soprattutto se esso risulta essere di qualità scadente. Koster et al. (1996) e Olson et al. (1999) hanno infatti osservato una maggiore digeribilità della fibra in animali alimentati con foraggi caratterizzati da un elevato contenuto di NDF quando alla dieta erano associate fonti proteiche ad elevata degradabilità. Ciò è sostanzialmente dovuto al fatto che i batteri cellulolitici presenti a livello ruminale risultano avere elevati fabbisogni in azoto solubile (Nocek e Russel, 1988). Sia il punteggio di conformazione che quello di ingrassamento delle carcasse non risultano essere, invece, influenzati dal livello in fibra ed in proteina grezza della dieta nella fase di accrescimento, ciò potrebbe essere giustificato dal fatto che possono essere marchiate IGP soltanto le carcasse con conformazione >R e punteggio di adiposità compreso tra 1 e 3, riducendo di molto la variabilità.

Conclusioni

Interessanti appaiono le indicazioni che scaturiscono dalla valutazione globale del sistema in un'ipotesi di assistenza tecnica agli allevamenti. Il fatto che parametri produttivi oggettivi e disponibili come l'AMG carcassa ed il punteggio della conformazione, sebbene scontati quali indici di efficienza, si combinino con il livello proteico ed il livello in fibra della razione nella fase di accrescimento, scaturito dalle informazioni date dall'allevatore, non appare affatto scontato. Infatti è proprio dalla combinazione di questi parametri ottenibili al mattatoio e durante le visite di controllo agli allevamenti che è possibile individuare le aziende problema ed adottare gli eventuali piani correttivi.

Bibliografia

- Antongiovanni M., Filippini F., Grifoni F., 1988 Stima dei fabbisogni nei vitelloni Chianini in funzione degli accrescimenti reali e di quelli attesi secondo gli standards francesi (I.N.R.A.) . Atti del V Congresso Internazionale della razza Chianina, 220-225.
- Antongiovanni M., Acciaioli A., Martini A., Sargentini C., 1990 Risultati di una prova sugli effetti della composizione della dieta sui consumi alimentari e sulle prestazioni produttive di vitelloni Chianini. Atti del Convegno Nazionale Parliamo di...produzione di carne bovina, 81-92.
- Fioroni A., 2005 Chianino o Chianina - Differenze produttive fra soggetti iscritti al Libro Genealogico Nazionale e non. Taurus 5:17-22.
- Franci O., Acciaioli A., Bozzi R., Funghi R., Martini A., Pugliese C., Sargentini C., Giorgetti A., 1996 Growth patterns of Chianina bull from 6 to 24 months fed two different diets. 2. Tissues. Livestock Production Science 46:191-201.
- Giorgetti A., Franci O., Acciaioli A., Funghi R., Lucifero M., 1995 Effetto dell'età e della concentrazione energetica della dieta sulle performance in vita del vitellone Chianino. Zoot. Nutr. Anim. 21:35-45.
- Koster H. H., Cochran R. C., Titgemeyer E. C., Vanzant E. S., Abdelgadir I., St-Jean G., 1996 Effect of Increasing Degrasable Intake Protein on Intake and Digestion of Low-Quality, Tallgrass-Praire Forage by Beef Cows. J. Anim. Sci. 74:2473-2481.
- Mengoli S., 2005 L'IGP Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale, strumento di valorizzazione delle carni delle razze italiane: risultati dei primi cinque anni. Atti del 4° World Italian Beef Cattle Congress 55-64.
- Nocek, J E., Russel J. B., 1988 Protein and energy as an integrated system. Relationship ruminal protein and carbohydrate availability to microbial protein synthesis and milk production. J. Dairy Sci., 71:2070-2107.
- Olson K. C., 1998 Prediction of pasture availability and nutritive value of tallgrass prairie forage in beef cattle production systems. Ph.D. dissertation. Kansas State Univ. Manhattan.

Tabella 1 - Caratteristiche principali delle razioni in fase di accrescimento.

		Media±DS	Min	Max
UFC/kg s.s.	n.	0,80±0,03	0,76	0,84
PG	%/s.s.	14,69±1,12	12,65	15,90
Amido	“	22,94±4,57	11,03	27,91
PDIN	g/kg s.s.	85,15±16,92	36,16	99,86
PDIE	“	89,80±13,97	45,16	101,96
UIP	%/PG	31,31±5,56	27,01	48,37
NDF	% s.s.	41,51±8,08	30,32	50,80
NSC	“	35,83±3,95	28,80	40,30

Tabella 2. Caratteristiche principali delle razioni in fase di finissaggio.

		Media±DS	Min	Max
UFC	n./kg s.s.	0,86±0,04	0,79	0,95
PG	% s.s.	14,20±1,15	12,33	15,90
Amido	“	27,07±7,32	9,88	39,20
PDIN	g/kg s.s.	82,12±19,76	32,35	101,00
PDIE	“	88,66±16,98	40,28	102,27
UIP	% PG	31,74±7,68	25,10	40,37
NDF	% s.s.	37,35±7,12	27,07	48,73
NSC	“	39,45±5,06	29,33	47,39

Tabella 3. Performance produttive dei vitelloni maschi IGP (165 soggetti).

	Media±DS	Min	Max
Punteggio conformazione carcassa	9,40±1,50	8,00	11,00
Punteggio stato ingrassamento	6,82±1,47	5,00	8,00
Età di macellazione	580,78±78,09	370,00	724,00
Peso carcassa	446,68±59,11	250,00	588,00
AMG carcassa	0,78±0,09	0,48	1,07

Tabella 4. Medie stimate relative all' AMG della carcassa (g/d) in funzione dei diversi livelli in proteina grezza ed in NDF delle razioni adottate nella fase di accrescimento nei diversi allevamenti.

Proteina Grezza	NDF	Media±ES
Basso	Basso	814±22B
Basso	Medio	830±22B
Basso	Alto	732±21B
Medio	Basso	806±17B
Medio	Medio	858±18AB
Medio	Alto	770±12B
Alto	Basso	903±28AB
Alto	Medio	784±10B
Alto	Alto	717±16B

(A, B: P<0,01)

Figura 1. Accrescimento medio giornaliero della carcassa nei vari allevamenti e confronto con la media della popolazione.

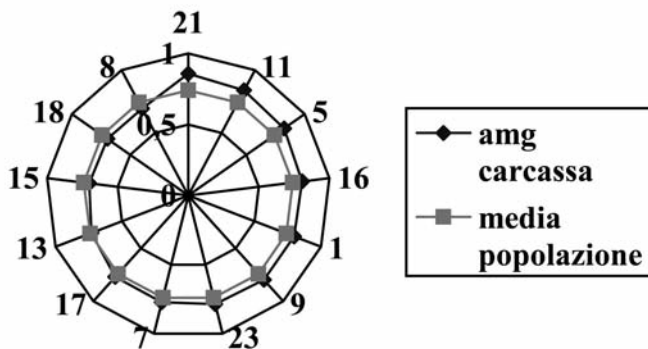


Figura 2. Loading Plot dei 4 costituenti sulle prime due componenti.

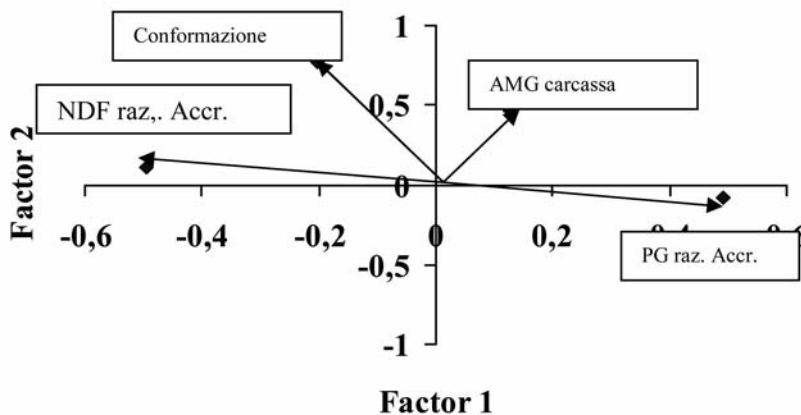
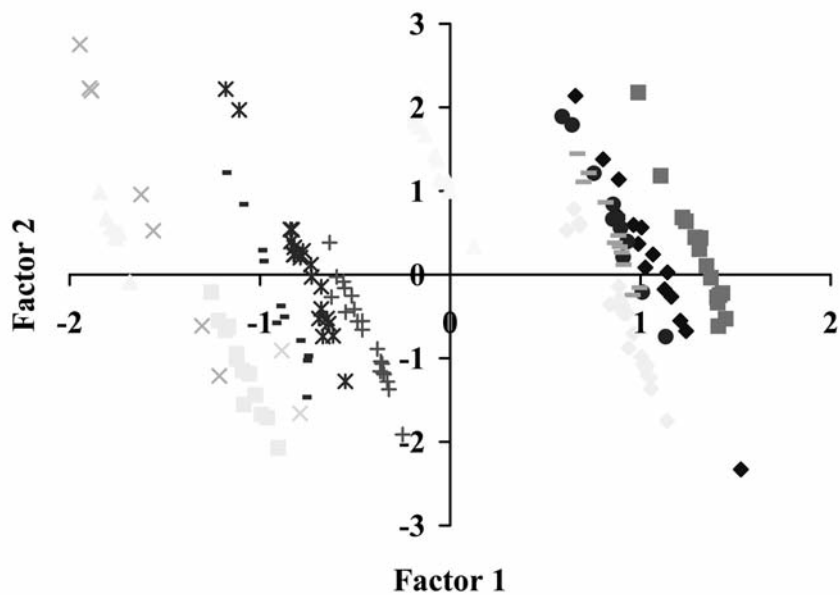


Figura 3 - Distribuzione delle osservazioni proiettati nel piano individuato dai primi 2 fattori, in funzione degli allevamenti considerati



GLI SNPs (polimorfismi di singoli nucleotidi) COME INDICI DI ALCUNI PARAMETRI PRODUTTIVI NELLE RAZZE CHIANINA E MARCHIGIANA

Lasagna E. (1), Landi V. (1), Filippini F. (2), Sarti F. M. (1), Panella F. (1),

(1) Dipartimento di Biologia Applicata – Sezione di Scienze Zootecniche – Università degli Studi di Perugia, Borgo xx Giugno, 74 – 06121 Perugia – e-mail: elasagna@unipg.it

(2) Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne, San Martino in Colle – 06132 Perugia

Riassunto – Oggi si chiede che i risultati della selezione siano resi disponibili in tempi ragionevolmente brevi. I moderni strumenti di selezione, offerti dalla genetica molecolare, possono sicuramente andare ad integrare i sistemi tradizionali, più prettamente quantitativi. In tale ottica, nell'ambito del progetto SELMOL, si andranno a determinare, in un campione di circa 1350 soggetti appartenenti alle razze Chianina e Marchigiana, i polimorfismi esistenti a livello di DNA in 26 SNPs (polimorfismi di singoli nucleotidi) presenti in 13 differenti geni. Gli eventuali polimorfismi evidenziati saranno correlati ai dati fenotipici rilevati nel corso del performance test a cui sono sottoposti i giovani torelli. Qualora anche un limitato numero degli SNPs saggiati mostrassero un certo effetto su alcuni dei caratteri considerati, se ne potrebbe ipotizzare, quantomeno in via sperimentale, l'impiego nei piani selettivi delle due razze.

Parole chiave: SNPs, parametri produttivi, Chianina, Marchigiana.

Introduzione

Le razze italiane da carne, in particolar modo la Chianina e la Marchigiana, sono da sempre associate alle tradizioni rurali ed etniche del centro Italia, costituendo non solo un valore economico e commerciale del comparto agricolo di quell'area geografica, ma anche un importante retaggio storico e culturale. Lo sforzo selettivo, in queste due razze, durante gli ultimi anni si è incentrato nell'ottenere un miglioramento degli accrescimenti giornalieri e della muscolosità in animali ben sviluppati somaticamente, con scheletro leggero e morfologicamente corretti, obiettivi perseguiti con metodi tradizionali di selezione quali la prova di performance in stazione genetica (controllo accrescimenti e morfologia). Si richiede però, sia da parte dall'allevatore che del consumatore finale, ormai da qualche tempo, un ulteriore progresso nello schema di selezione. Si è reso necessario, quindi, considerare alcuni caratteri di primaria importanza che

sarebbero dei punti di forza per l'intera filiera produttiva e che però non vengono considerati nell'attuale metodo di selezione dei riproduttori.

Da parte degli allevatori, infatti, si richiede che i risultati della selezione siano resi disponibili in tempi ragionevolmente brevi in modo da contrastare, con la giusta elasticità, la notevole mutabilità delle condizioni economiche e di mercato (cambiare cioè la tipologia di animale allevato in base alle richieste del mercato). D'altro canto l'Associazione Nazionale Allevatori Bovini Italiani da Carne (ANABIC), deve poter garantire oltre che ad un certo contenimento dei costi di selezione, anche una buona affidabilità dei risultati, il che si traduce in un allungamento dei tempi necessari per effettuare la scelta dei riproduttori.

Infine, bisogna considerare le richieste del binomio distribuzione (venditori al dettaglio, ma anche grande e media distribuzione) e consumatore finale. Infatti, se da un lato il comparto commerciale preme in maniera forte per avere una carne più adatta alla commercializzazione, richiedendo una giusta shelf-life, rendimento in tagli commerciali e adeguatezza ai processi di trasformazione, il consumatore è sempre più attento al fatto che il prodotto rispetti numerosi parametri di qualità che vanno dalla tenerezza, al colore, all'aroma passando per la conservabilità.

Una nuova strategia di selezione è offerta dallo studio dei marcatori genetici **SNPs** (polimorfismi di singoli nucleotidi): gli SNPs sono mutazioni puntiformi disperse casualmente lungo tutto il genoma e sono i marcatori del DNA più diffusi (uno ogni 500-1000 nucleotidi). Questi marcatori, oltre ad essere i più frequenti, sono quasi sempre biallelici e si prestano ad essere analizzati mediante sistemi completamente automatizzati, detti di high-throughput, che sfruttano il fatto che i due alleli possono essere analizzati e trattati in modo binario (Blasi et al., 2005).

Tali marcatori, messi a confronto con i dati fenotipici (morfologia dell'animale, performance in allevamento e al macello, caratteristiche quanti - qualitative della carne), possono essere utilizzati in unione con i metodi di selezione tradizionali per rendere la valutazione dei soggetti più efficace sia in termini di affidabilità della stima che in termini di tempo impiegato nella scelta degli animali. Questa metodica, chiamata *Genome Selection*, è già stata sperimentata in altri paesi ed è oramai provata la sua efficacia nel migliorare le tecniche di valutazione dei riproduttori nelle specie di interesse zootecnico (progetto di ricerca: Enhancing Genetic Merit of Dairy Cattle Through Genome Selection and Analysis - Animal and Natural Resources Institute, Beltsville Area). Alcuni autori (Sherman et al., 2008), in razze estere, hanno già messo in evidenza le correlazioni che esistono tra SNPs e parametri di efficienza economica quali l'utilizzazione metabolica della razione, l'incremento medio giornaliero, ecc.

DeVuyst et al. (2008) hanno evidenziato come SNPs presenti nel gene della Leptina siano in grado di influenzare il peso allo svezzamento in vitelli da carne. Allo stesso modo i polimorfismi SNPs sono stati correlati con importanti parametri relativi al valore della carcassa come la quantità e qualità di grasso di deposito presente (Jiang et al., 2008).

Seconda proposta per la risoluzione dei problemi, è quella di creare un punto di unione tra i differenti anelli della filiera e renderli parte integrante del processo selettivo. E' necessario, infatti, che la selezione degli animali sia effettuata prendendo in considerazione non solo gli aspetti legati all'allevamento, ma anche usufruendo delle informazioni provenienti da altri comparti (macelli, distribuzione, dettagliante) che possono essere un materiale prezioso per integrare lo schema di valutazione genetica.

I marcatori molecolari SNPs, inoltre, possono essere utilizzati per molteplici applicazioni nel settore zootecnico come, ad esempio, la tracciabilità dei prodotti alimentari: Capoferri et al. (2005), utilizzando un panel di 12 SNPs, hanno dimostrato la buona attendibilità di tale metodica con esiti di corretta assegnazione dei soggetti analizzati pari al 96%. L'analisi genetica tramite SNPs è risultata quindi un utile strumento per certificare tutte le informazioni riportate sull'etichetta dei prodotti garantendone l'origine e valorizzando quelli tipici e/o di origine controllata.

Alla luce della sempre maggiore importanza che stanno assumendo le tecniche di indagine molecolare nella selezione degli animali in produzione zootecnica, il Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali nel febbraio 2007 ha finanziato un progetto di ricerca dal titolo "Ricerca e innovazione nelle attività di miglioramento genetico animale mediante tecniche di genetica molecolare per la competitività del sistema zootecnico nazionale – SELMOL" in cui sono coinvolte molte sedi universitarie italiane e Associazioni Nazionali di razza. Nella fattispecie l'Università degli Studi di Perugia e ANABIC fanno parte della Unità Operativa Carne bovina e altre specie (Coordinatore Prof. A. Valentini – Università della Tuscia). L'Università di Perugia (coordinatore Prof. F. Panella) partecipa all'attività come Subunità e, in tale progetto, si occuperà di individuare polimorfismi SNPs ed eventuali correlazioni esistenti tra questi e i principali parametri fenotipici rilevati in sede di performance test (pesi e rilievi biometrici in performance test, accrescimenti medi giornalieri, valutazioni lineari) nelle razze Chianina e Marchigiana.

Materiali e metodi

Nell'ambito dell'attività prevista dal progetto SELMOL, la Subunità operativa Perugia andrà a verificare la presenza di polimorfismi a carico di 26 SNPs in soggetti di razza Chianina e Marchigiana. La scelta degli SNPs da studiare è stata effettuata dopo attenta analisi della bibliografia disponibile ed è ricaduta su quelli che potrebbero maggiormente influenzare alcuni caratteri connessi alla produzione carne. L'altro importante vincolo è rappresentato dalla disponibilità di rilievi fenotipici per tali caratteri.

Nel prospetto che segue sono riportati i 13 differenti geni, in cui si trovano i 26 differenti SNPs che saranno oggetto di studio ed una breve descrizione dell'attività svolta dal gene stesso:

GENI	DESCRIZIONE
GHR	L'ormone della crescita (GH) esprime la sua funzione in innumerevoli attività dell'organismo che vanno dalla crescita e mantenimento dell'individuo inteso come sviluppo delle parti somatiche del corpo oltre che su innumerevoli e non ancora del tutto ben chiarite funzioni metaboliche, come la produzione del latte e il deposito del grasso e soprattutto il bilancio energetico dell'organismo (Wynne et al., 2005). Forse più importante a tal proposito, è l'espressione del gene che codifica per il recettore di tale ormone (GHR), il Growth Hormone Receptor. Innumerevoli studi hanno provato l'associazione tra i polimorfismi a singole basi di tale gene con alcuni caratteri di interesse zootecnico come il deposito di grasso, il peso in generale dell'individuo, l'efficienza energetica e la crescita in età giovanile (Sherman E. L. et al., 2008). E' da dire che non è ancora chiaro quale dei molti polimorfismi abbia un effetto di sostituzione allelica più forte perché in alcuni studi, alcuni di essi, come ad esempio il g.AF140284-257>A non hanno mostrato associazione con alcun carattere (Di Stasio et al., 2005).
GDF8	Il gene della miostatina è coinvolto nell'espressione di una proteina che svolge un ruolo significativo nello sviluppo e regolazione delle masse muscolari degli animali più diversi come pesci, avicoli, cani, ovini e bovini (Bellings R. H. S. et al., 2005). Nei bovini l'effetto di questo gene è oltremodo accentuato, soprattutto quando occorrono mutazioni a livello delle regioni codificanti del gene che alterano la struttura della proteina rendendo nullo il suo effetto regolatore e producendo il famoso fenotipo ipertrofico o <i>double muscle</i> . In realtà sono state scoperte in numerosi studi, altre mutazioni puntiformi a livello del gene, come due SNPs a livello del promotore (Crisà et al., 2003) che sembrano avere effetti visibili sullo sviluppo delle masse muscolari anche in animali non portatori dell'ipertrofia e ancora un importante SNP scoperto a livello del I esone che avrebbe effetto su moltissime caratteristiche fisiche e produttive dell'individuo che vanno dal peso alla nascita, alla docilità, al peso corporeo, ecc. (Esmailzadeh A. K. et al., 2008). E' chiaro che le funzioni di questo gene e la sua regolazione sono per grande parte ignote, basti pensare ai numerosi caratteri secondariamente influenzati in animali ipertrofici (Bellings R. H. S. et al., 2005). Altro effetto interessante è che nel 1998 Grobet et coll., scoprirono che soggetti Limousine con fenotipo ipertrofico non presentavano alcuna mutazione che provocasse la perdita di funzione della proteina, mentre riscontrarono un'alta frequenza della mutazione conservativa sul I esone (F94L).
GHRL	Il polimorfismo identificato su questo gene è stato associato alla crescita dell'individuo, all'efficienza con la quale viene utilizzata l'energia della razione e quindi, in generale, al metabolismo delle fonti energetiche (Sherman et al., 2008). L'effetto più importante, comunque, risiederebbe nell'attività di regolazione del rilascio del GH.

LEPTINA	La leptina è per eccellenza l'ormone coinvolto nel metabolismo dei lipidi corporali. Il gene che codifica per tale proteina, l' <i>obese gene</i> , è stato identificato come il principale controllo della crescita e sviluppo degli adipociti. In generale, l'espressione del gene controlla anche le dimensioni del fisico e la qualità della carcassa oltre che la marezza delle carni (Buchanan et al., 2002). Ciò è dovuto anche a un'influenza indiretta su tali caratteristiche, grazie all'effetto positivo che l'ormone svolge sulla capacità di ingestione e sull'appetito (Lagonigro et al., 2003). Altri studi sembrerebbero rilevare la presenza di qualche effetto positivo di alcuni polimorfismi sul gene nell'aumentare il peso allo svezzamento anche se in assenza di una forte evidenza statistica (DeVuyst et al., 2008). In definitiva si è dimostrata l'associazione dei polimorfismi di tale gene, sia delle parti codificanti sia del promotore, con la morfologia generale dell'animale, con la crescita, con il punteggio dello stato di ingrassamento della carcassa, con la resa in osso, con la durata dell'alimentazione e con la quantità di alimento ingerito (Nkrumah et al., 2005).
MYF5	Questo gene sarebbe coinvolto nella differenziazione dei miociti e nello sviluppo muscolare. Li et al., nel 2004, hanno trovato un'associazione diretta tra sostituzione allelica dei polimorfismi del gene e incremento medio giornaliero, peso alla nascita e indice di conversione alimentare.
IGF1	L'IGF1 è anche esso un fattore regolatore della crescita e della differenziazione dei tessuti ed inoltre sembrerebbe avere un ruolo chiave nel mantenimento dei glicorecettori delle membrane cellulari. Li et al. (2004) hanno messo in relazione uno SNP presente nell'esone I con gli incrementi medi giornalieri nel pre-svezzamento, ma un minor peso alla nascita. Relazioni sono state anche evidenziate con l'indice di conversione alimentare nella fase di crescita.
IGF2	Anche l'IGF2 ha innumerevoli effetti sulla crescita muscolare e la regolazione del metabolismo. Nel 2007, Goodall ha messo in relazione alcuni aplotipi del gene con un maggiore diametro e volume dei tagli dorsali pregiati e quindi dell'aspetto morfologico dell'animale relativamente alla produzione di carne. Flisikowski et al. (2007) hanno studiato un'inserzione-delezione nel VI esone associandola positivamente alla <i>breeding value</i> in tori di razze da latte per la resa in kg di latte, grasso e proteine. Il gene potrebbe comunque avere (relazione non ancora studiata) effetti positivi sullo sviluppo somatico degli animali e sulle caratteristiche alla nascita dei vitelli.
PSMC1	E' coinvolto nella regolazione dei cicli cellulare, nell'apoptosi e in innumerevoli funzioni cellulari. Guo et al nel 2008 hanno associato polimorfismi di questo gene con l'ingestione media giornaliera, l'incremento medio giornaliero, la lunghezza del tronco, il costo alimentare del kg/carne e un finissaggio più rapido degli animali da carne.
UCP3, UCP2	Stone et al., nel 1999, hanno descritto due principali polimorfismi nel gene che codifica per le "uncoupling proteins" UCP2 e UCP3. Si pensa che queste possano avere un ruolo importante nel modulare la risposta fisiologica dell'animale nel convertire la razione e nel più efficiente utilizzo dell'energia di mantenimento e quindi indirettamente con migliori performance in crescita e alla macellazione.
NPY	E' il gene codificante il Neuropeptide Y i cui polimorfismi sono stati descritti da Sherman et al. nel 2008. Tre SNPs presenti nel II introne hanno mostrato in animali da carne una netta associazione con la crescita dell'animale e l'efficienza energetica del metabolismo ma, soprattutto, si è notato un marcato effetto sulla marezza delle carni e il punteggio positivo delle caratteristiche della carcassa.

Ob-R	Gene che codifica per la proteina recettore del gene obese, la leptina. E' stata provata da Liefers nel 2004 una chiara associazione tra un polimorfismo presente all'esone 20 e il livello dell'ormone leptina nel sangue nel periodo preparto. Tale fatto potrebbe essere associato ad importanti fattori legati alla fertilità e al metabolismo preparto in interazione con l'espressione del gene della leptina.
POMC	E' il gene che codifica per la proopiomelanocortina. Buchanan et al. (2002) hanno messo in relazione alcuni suoi polimorfismi, soprattutto uno SNP a livello dell'introne 2 che è stato associato positivamente con il peso alla macellazione (maturità commerciale) e il peso a caldo della carcassa. Inoltre, sarebbe un regolatore dell'appetito e quindi indirettamente della crescita dell'animale.
GH	La sua funzione è importantissima per innumerevoli funzioni, in primis la promozione della crescita dell'animale in sinergia con l'ormone GHR, ma anche con il deposito di grasso corporeo e la mobilitazione delle riserve corporee. In particolare, sarebbe provata una forte modulazione dell'effetto del gene da parte di un polimorfismo presente sul promotore del gene descritta da Kim e coll. nel 2004.

Gli SNPs sopra descritti, oltre che nelle razze podoliche sopra citate, saranno contemporaneamente studiati, nell'ambito dello stesso progetto, anche nella razza bovina Piemontese. Questo permetterà di attuare un confronto tra le razze italiane da carne.

I dati relativi al campione oggetto di studio ed alla sua numerosità, sono riportati nelle tabelle seguenti:

Prospetto riassuntivo campioni razza Marchigiana

RAZZA	CATEGORIA	ANIMALI N	OSSERVAZIONI FENOTIPICHE
MARCHIGIANA	TORI	3	pesi mensili e relativi incrementi ponderali giornalieri, misure biometriche
	TORELLI	204	pesi e rilievi biometrici in performance test
	VITELLONI	33	pesi mensili e relativi incrementi ponderali giornalieri, misure biometriche, qualità carne
	VACCHE E MANZE	25	pesi mensili e relativi incrementi ponderali giornalieri, misure biometriche
TOTALE		265	

Per la razza Marchigiana pertanto il campione sarà costituito principalmente dal DNA, già stoccato presso i laboratori del Dipartimento di Biologia Applicata dell'Università degli Studi di Perugia relativo ai torelli in prova di performance (approvati e non) entrati al centro genetico dal 2005 ad oggi. A tale campione

saranno, inoltre, aggiunti i campioni di DNA della mandria sperimentale di proprietà del Dipartimento stesso.

Prospetto riassuntivo campioni razza Chianina

RAZZA	CATEGORIA	ANIMALI N	OSSERVAZIONI FENOTIPICHE
CHIANINA	TORI	72	valutazione lineare e morfologica
	TORELLI	352	pesi e rilievi biometrici in performance test
	VACCHE	928	valutazione lineare e morfologica
TOTALE		1352	

Per quanto riguarda la razza Chianina il campione sarà costituito, come per la Marchigiana, dal DNA dei torelli in prova di performance (approvati e non) entrati al centro genetico dal 2003 ad oggi. A tale campione andranno, inoltre, ad aggiungersi circa 1000 campioni di DNA reperiti nell'ambito di un precedente progetto (Zoobanca) e già in nostro possesso (vacche e tori).

I campioni di DNA verranno inviati alla Kbioscience (Inghilterra) che svolgerà l'attività di determinazione genotipica. Successivamente i dati ottenuti saranno studiati, in collaborazione con ANABIC, alla ricerca di eventuali correlazioni tra polimorfismi presenti a livello di DNA e i principali parametri produttivi di cui si dispone.

Conclusioni

Al momento attuale non è possibile trarre alcuna conclusione poichè si sta ancora provvedendo all'invio dei campioni alla KBioscience per l'effettuazione delle analisi di laboratorio. Tuttavia, il lavoro che ci si accinge a svolgere porterà a verificare il reale effetto che gli SNPs studiati hanno su alcune caratteristiche produttive delle razze Chianina e Marchigiana. Qualora anche un limitato numero degli SNPs saggiati mostrassero un certo effetto su alcuni dei caratteri considerati, se ne potrebbe ipotizzare, quantomeno in via sperimentale, l'impiego nei piani selettivi delle due razze. I dati molecolari potrebbero, infatti, essere utilizzati di routine per una sorta di pre-selezione dei vitelli candidati da avviare alla prova di performance test consentendo così di guadagnare tempo e di concentrare lo sforzo selettivo su animali in grado di esprimere un maggior potenziale produttivo.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento alla Prof.ssa Liliana Di Stasio dell'Università degli Studi di Torino per i competenti consigli nell'identificazione e predisposizione del panel di SNPs da utilizzare nel presente lavoro. I sensi della nostra stima vanno anche ai Proff.ri Alessandro Nardone e Alessio Valentini dell'Università della Toscana per aver coinvolto il nostro gruppo nel progetto SELMOL.

Bibliografia

- Bellinge R.H.S., Liberles D.A., Iaschi S.P.A., O'Brien P.A., Tay G.K., 2005, *Animal Genetics* 36, 1-6.
- Blasi M., Lanza A., Genzini E., Sassano A., 2005, 4th World Italian Beef Cattle Congress, Italy, April 29 th - May 1 st, 267-272.
- Buchanan F. C., Fitzsimmons C. J., Van Kessela A. G., Thuea T. D., Winkelman-Sima D. C., Schmutza S. M., 2002, *Genetic Selection and Evolution*, 105-16.
- Capoferri R., Galli A., Bongioni G., 2005, 4th World Italian Beef Cattle Congress, Italy, April 29 th - May 1 st, 261-266
- Crisà A., Marchitelli C., Savarese M. C., Valentini A., 2003, *Cytogenetic and Genome Research*. 102, 48.
- DeVuyst EA, Bauer M L, Cheng F C, Mitchell J., Larson D., 2008, *Anim Genet.*, 39 (3), 284-286.
- Di Stasio L., G. Destefanis, A. Brugiapaglia, A. Albera, A. Rolando, 2005, *Animal Genetics*, 36, 138–140
- Esmailzadeh A. K., Bottema C. D. K., Sellick G. S., Verbyla A. P., Morris C. A., Cullen N. G., Pitchford W.S., 2008, *Journal of Animal Sciences* 86, 1038-46.
- Flisikowski K., Adamowicz T., Strabel T., Jankowski T., Switonski M., Zwierzchowski L., 2007, *Biochemical Genetics* 45, 139-43.
- Goodall J. J.S.M.S., 2007, *Animal Genetics* 38, 154-61.
- Grobet L., Poncelet D., Royo J.L., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménéssier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M., 1998, *Mamm. Genome* 9:210-213.
- Guo H., Liu W.S., Takasuga A., Eyer K., Landrito E., Xu S.Z., Gao X., Ren H.Y., 2008, *Biochemical Genetics* 46, 347-55.
- Jiang Z., Michal JJ, Tobey DJ, Daniels TF, Rule DC, Macneil MD, 2008, *Int J Biol Sci*, 4 (6), 345-351.
- Kim N. K., Y. W. Seo, G. H. Kim, J. H. Joh, O. H. Kim, E. R. Chung, C. S. Lee, 2004, *Animal Genetics*, 35, 142–167
- Lagonigro R., P. Wiener, F. Pilla, J. A. Woolliams, J. L. Williams, 2003, *Anim Genet* 34:371-374.
- Li C., J. Basarab, W. M. Snelling, B. Benkel, B. Murdoch, C. Hansen, S.S. Moore, 2004, *J. Anim. Sci.* 82:1-7.

- Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MF, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T., 2004, Anim Genet. Apr; 35(2):138-41.
- Nkrumah J.D., Li C., Yu J., Hansen C., Keisler D.H., Moore S. S., 2005, Journal of Animal Science 83, 20-8.
- Sherman EL, Nkrumah J.D., Murdoch BM, Moore SS, 2008, Anim Genet, 39 (3), 225-231.
- Stone R T, C E Rexroad III, T P L Smith, 1999, Animal Genetics, 30, 378±381.
- Wynne K., Stanley S., B. McGowan, S. Bloom, 2005, J. Endocrinol., 565 184: 291-318.

INFLUENZA DI ALCUNI FATTORI POST MORTEM SULLE CARATTERISTICHE COLORIMETRICHE DELLA CARNE DI VITELLONI MARCHIGIANI

Zullo A. (1), Pucillo G. (2), Barone C.M.A. (1)

(1) *Dipartimento di Scienze del suolo, della pianta, dell'ambiente e delle produzioni animali. Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (NA)*

(2) *Collaboratore esterno*

Riassunto - La ricerca è stata condotta su 13 vitelloni di razza Marchigiana (7 maschi e 6 femmine) nati da soggetti iscritti al Libro genealogico e allevati in provincia di Benevento. Il peso vivo alla mattazione, all'età di circa 18 mesi, è risultato di 646 ± 57 kg per i maschi e 512 ± 19 kg per le femmine. Al termine del periodo di refrigerazione della carcassa, che ha avuto una durata variabile dai 4 ai 10 giorni, sono state rilevate le caratteristiche colorimetriche sui campioni dei seguenti muscoli: *Caput Longum Tricipitis Brachii* (CLOTB), *Longissimus Dorsi* (LD), *Semimembranosus* (Sm) e *Semitendinosus* (St). I campioni muscolari sono stati posti in frigorifero alla temperatura di 4 °C per circa 1 ora sotto film plastico, per consentire il blooming. Dopo la prima determinazione del colore, i campioni sono stati posti di nuovo in frigorifero ed è stato rideterminato il colore dopo 24, 48 e 72 ore. Ogni misurazione è stata effettuata sia sul lato superiore (superficie esposta all'aria) che inferiore (superficie non esposta all'aria) del campione di carne al fine di valutare lo stato di ossidazione della mioglobina. I risultati hanno evidenziato che la carne fornita dai maschi, rispetto alle femmine, è risultata più 'chiara' e con un maggiore indice del rosso e del giallo. Fra i muscoli esaminati, il *Semitendinosus* appare più accettabile dal consumatore perché più 'chiaro' e con un maggiore indice del rosso, per cui si avvicina di più al colore rosso porpora, rispetto agli altri muscoli considerati (CLOTB, LD e Sm).

Il lato superiore del campione di carne, rispetto a quello inferiore che è meno esposto all'aria, presenta una maggiore percentuale di riflettanza, una maggiore luminosità, un più elevato indice del rosso e del giallo e una maggiore saturazione o purezza di colore (Croma).

Il periodo di frollatura ottimale dovrebbe essere di circa 8 giorni per ottenere una carne maggiormente gradita al consumatore. Infatti, la carne risulta più 'chiara' per una maggiore luminosità e un minore indice del rosso e del giallo, nonché con una maggiore stabilità di colore; prolungando la frollatura a 10 giorni la carne diventa più 'rossa' per un incremento dell'indice del rosso e del giallo, un maggior valore di Croma e, conseguentemente, un valore di Tinta minore. Tuttavia, è emerso che il periodo di frollatura ottimale varia anche in funzione del muscolo: nel Sm e nel

CLoTB la percentuale di riflettanza e la Luminosità aumentano ancora passando dagli 8 ai 10 giorni di frollatura, mentre nel St e nel LD diminuiscono.

Parole chiave: Marchigiana, Colore della carne, Frollatura.

Introduzione

Il colore è una delle caratteristiche qualitative della carne che maggiormente condiziona la scelta del consumatore perché collegato alla tenerezza e alla freschezza. Il colore è definito come l'insieme delle sensazioni percepite dall'occhio umano in funzione delle radiazioni che riceve alle lunghezze d'onda comprese nel campo del visibile (tra 380 nm e 780 nm). Il colore della carne è dovuto principalmente alla mioglobina (una cromoproteina) presente nelle fibre muscolari e, secondariamente, all'emoglobina residua nei tessuti dopo il dissanguamento che non risulta mai completo. L'emoglobina e la mioglobina hanno la proprietà di combinarsi con l'ossigeno formando complessi specifici: ossiemoglobina e ossimioglobina; questa proprietà riveste una notevole importanza per la funzione che tali pigmenti esplicano. Infatti, l'emoglobina agisce come trasportatore di ossigeno dai polmoni alle cellule dei tessuti, attraverso il circolo sanguigno, mentre la mioglobina, fungendo da accumulatore biologico, immagazzina l'ossigeno trasportato dall'emoglobina per poi cederlo ai mitocondri. Quanto più è elevata l'attività del muscolo tanto maggiore sarà la quantità di mioglobina e, quindi, il muscolo appare più 'scuro' e più 'rosso'. La superficie della carne appena tagliata contiene mioglobina allo stato ridotto e appare di colore rosso porpora; successivamente, in presenza di ossigeno, la mioglobina presente sulla superficie di taglio reagisce trasformandosi nella forma ossigenata (ossimioglobina) il cui colore è un rosso brillante. Tale reazione si estende all'interno della carne fino al limite di penetrazione dell'ossigeno. Quando la quantità di ossigeno è minima si ha una reazione di ossidazione con formazione di metamioglobina, la quale conferisce un colore bruno-verde, poco gradito al consumatore (Forrest *et al.*, 1975). Spesso ciò accade nella carne preparata in confezioni semipermeabili o sottovuoto.

Numerosi sono i fattori che influenzano il colore della carne, sia intrinseci all'animale (specie, tipo genetico, sesso, peso vivo, età) che estrinseci (trasporto, modalità di mattazione, refrigerazione, modalità di vendita, ecc.). In riferimento al sesso, per esempio, è stato evidenziato che nel bovino la femmina tenderebbe a fornire una carne più 'chiara', rispetto al maschio (Matassino *et al.*, 1985a; Jeremiah *et al.*, 1977; Berry *et al.*, 1978; Griffin *et al.*, 1985).

Lo stress dovuto al trasporto e/o alla macellazione influenza significativamente il colore della carne in quanto la produzione di adrenalina provoca un depauperamento del glicogeno muscolare. Un basso livello di quest'ultimo, immediatamente dopo la macellazione, condiziona negativamente l'inizio del *rigor mortis* ed impedisce il raggiungimento di un normale pH acido. Una delle sindromi causate da stress prima della mattazione è il "taglio scuro" nel bovino (DFD

=*dark, firm, dry*). Nella carne dei soggetti affetti dalla sindrome DFD la struttura della fibra risulta chiusa, con formazione di un sottilissimo strato di ossimioglobina, per cui prevale il colore rosso-purpureo della mioglobina (da qui il termine “taglio scuro”) (Lawrie, 1979; Lister e Spencer, 1983; Fisher e Hamm, 1980).

Infine, non meno importante risulta il periodo di refrigerazione della carcassa per le conseguenze sul colore della carne (Boakye e Mittal, 1996; Hernández *et al.*, 1999). La sperimentazione, della quale si riportano in questa pubblicazione i risultati relativi ai parametri colorimetrici, ha avuto lo scopo di ottenere ulteriori informazioni sulla qualità della carne fornita da vitelloni di razza Marchigiana allevati in provincia di Benevento, seguendo gli schemi di alimentazione usualmente praticati nella zona e utilizzando la tecnica di macellazione standardizzata di un macello accreditato IGP del Vitellone Bianco dell’Appennino Centrale. In particolare, si è inteso valutare l’effetto dei fattori sesso, muscolo, durata della frollatura, lato del campione e, infine, giorni di permanenza del campione in frigorifero dopo la normale sezionatura dei tagli commerciali su alcune caratteristiche colorimetriche della carne.

Materiale e metodi

Sono stati utilizzati 13 vitelloni di razza Marchigiana (7 maschi e 6 femmine) allevati in provincia di Benevento, nati da genitori iscritti al Libro genealogico. I soggetti hanno ricevuto la stessa qualità di alimenti (foraggi e concentrati) prodotti nelle aziende di allevamento, anche se con una leggera variazione in termini di quantità dei componenti la razione. Complessivamente, si può ritenere che le razioni utilizzate siano rappresentative del sistema di allevamento dei vitelloni nella provincia di Benevento. La razione tipo è riportata nel seguente schema I.

Schema I - Razione tipo per vitelloni del peso di 550 kg e con incremento medio giornaliero di circa 1200 g (costo riferito al 2007).

Alimento	Quantità kg	SS kg	UFC	PG g	FG kg	NDF kg	ADF kg	Ca g	P g	Costo ¤
Fieno di veccia e avena (30-70)	4,8	4,258	2,11	472,3	1,171	2,189	1,260	25,9	9,1	0,288
Farina di orzo	1,6	1,376	1,60	147,2	0,090	0,288	0,104	0,80	5,8	0,288
Farina di mais	2,2	1,892	2,46	198,0	0,048	0,198	0,066	0,22	5,9	0,704
Polpe di bietola	1	0,900	0,87	88,0	0,180	0,370	0,210	9,00	1,1	0,230
Farina di favino	1	0,870	1,02	264,0	0,075	0,110	0,083	1,10	6,1	0,170
Mangime complesso	1,1	0,963	0,80	187,0	0,094	0,308	-	8,58	6,5	0,341
TOTALE	11,70	10,26	8,86	1356,5	1,657	3,463	1,723	45,6	34,5	2,021

Al raggiungimento del peso di macellazione i soggetti sono stati trasferiti presso un unico macello, accreditato IGP del Vitellone bianco dell'Appennino centrale. Pertanto, le operazioni di macellazione e sezionatura della carcassa sono state identiche per tutti i soggetti, mentre la durata della frollatura, per motivi tecnico-commerciali, non è stata la stessa.

Nello schema II sono riportati il peso vivo alla mattazione, l'età, il peso della carcassa calda, la resa lorda e la durata della frollatura dei gruppi sperimentali.

Schema II - Caratteristiche dei soggetti utilizzati

Parametro	Marchigiana					
	Maschi (n = 7)			Femmine (n = 6)		
	media	dev.st.	cv,%	media	dev.st.	cv,%
Peso vivo, kg	646	57	9	512	19	4
Età, mesi	17,8	1,2	7	18,4	3,3	18
Peso carcassa, kg	406	33	8	320	14	4
Resa lorda, %	62,9	1,9	3	62,6	1,3	2
Frollatura, giorni	6,6	1,8	28	7,5	2,5	33

Al termine della refrigerazione sono stati prelevati i campioni di carne dai seguenti muscoli della mezzena destra: *Caput Longum Tricipitis Brachii* (CLoTB), *Longissimus Dorsi* (LD), *Semimembranosus* (Sm) e *Semitendinosus* (St). Per la determinazione delle caratteristiche colorimetriche, due campioni per ogni muscolo sono stati posti in frigorifero alla temperatura di 4 °C per circa 1 ora sotto film plastico, per consentire il blooming (bilanciamento delle varie frazioni della mioglobina). Dopo il primo rilievo dei parametri colorimetrici, (1 ora), i campioni sono stati posti di nuovo in frigorifero ed è stato rideterminato il colore dopo un periodo di 24, 48 e 72 ore. Ogni misurazione è stata effettuata sia sul lato superiore (superficie maggiormente esposta all'aria che inferiore (superficie meno esposta all'aria) del campione di carne. Per il rilievo delle caratteristiche colorimetriche è stato impiegato lo spettrofotometro Hitachi U-3000, munito di sfera integratrice, che fornisce la curva spettrofotometrica, ovvero la percentuale di riflettanza alle diverse lunghezze d'onda dello spettro del visibile (da 380 a 780 nm), la luminosità o brillantezza (L^*), l'indice del rosso (a^*) e l'indice del giallo (b^*). Da questi parametri sono stati calcolati i valori di Cromo [$C=(a^{*2}+b^{*2})/2$] e di Tinta [$T=\arctg(b^*/a^*)$]. Al fine di poter confrontare i valori di questi parametri con quelli presenti in letteratura, è stato scelto di utilizzare solo i parametri ottenuti con l'illuminante D65, che corrisponde alla luce del giorno in condizioni di cielo sereno, alla temperatura-colore di 6.500 °K.

La stima della percentuale di ossimioglobina presente sulla superficie di taglio del campione è stata ottenuta come K/S 610:K/S 525, in accordo con Mancini *et al.* (2003).

La stima della stabilità del colore (o differenza di colore) durante il periodo di permanenza del campione in frigorifero è stata calcolata secondo quanto suggerito da Boakye e Mittal (1996):

$$DC = ((L^*_0 - L^*_x)^2 + (a^*_0 - a^*_x)^2 + (b^*_0 - b^*_x)^2)^{0.5}$$

L'elaborazione statistica dei dati è stata effettuata secondo il seguente modello di analisi della varianza, in cui i fattori "sesso", "muscolo", "lato del campione", "giorni di frollatura" e "ore di permanenza in frigo del campione" sono stati considerati fissi e l'effetto di ciascuno è espresso come deviazione dalla media generale μ :

$$y_{ijklmn} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + \phi_m + (\beta\delta)_{jl} + e_{ijklmn} \quad (1)$$

ove:

y_{ijklmn} = valore dell' n^{ma} replicazione della caratteristica colorimetrica misurata sul k^{mo} lato del campione prelevato dal j^{mo} muscolo, che ha avuto l' m^{ma} permanenza in frigo e appartenente al soggetto di sesso i^{mo} , la cui carcassa è stata frollata per l' l^{ma} durata.

μ = effetto fisso comune a tutte le osservazioni (media generale);

α_i = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative all' i^{mo} sesso ($i=1,2$);

β_j = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative al j^{mo} muscolo ($j=1,2, 3, 4$);

γ_k = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative al k^{mo} lato ($k=1,2$);

δ_l = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative all' l^{mo} giorno di frollatura ($l=4, 6, 8, 10$);

ϕ_m = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative all' m^{ma} ora di permanenza in frigo del campione ($m=1, 24, 48, 72$);

$(\beta\delta)_{jl}$ = effetto fisso comune a tutte le osservazioni relative all'interazione fra muscolo e giorni di frollatura;

e_{ijklmn} = errore residuo casuale e/o effetti non spiegati.

Trattandosi di uno schema sperimentale con dati sbilanciati, è stato necessario procedere alla stima delle medie dei livelli di ciascun fattore, per cui ogni media stimata rappresenta un valore ponderato che tiene conto di tutti gli effetti dei fattori considerati singolarmente e interattivamente (Matassino *et al.* 1985b).

La significatività delle differenze fra le medie stimate è stata saggiata con il test t di Student. Per l'analisi statistica è stata utilizzata la procedura GLM del pacchetto statistico SAS (1997).

Discussione dei risultati

Dai risultati dell'analisi della varianza si rileva che le fonti di variazione considerate influenzano significativamente quasi tutti i parametri colorimetrici ($P < 0,05-0,001$). La percentuale di variabilità spiegata dal modello intero varia dal 30 al 60 per cento per la riflettanza da 380 a 780 nm, raggiunge il valore del 60%

per la luminosità (L^*) e l'indice del giallo (b^*), il 56% per il Cromo, il 50% per l'indice del rosso e il 30% per la Tinta. La maggior parte della variabilità della riflettanza e della luminosità è dovuta al fattore muscolo, mentre i valori di a^* e di b^* e il Cromo vengono influenzati maggiormente dal fattore lato del campione; viceversa, la Tinta risente maggiormente dell'effetto delle ore di permanenza in frigo del campione.

Sesso: la carne ottenuta dai maschi, rispetto a quella fornita dalle femmine, risulta più 'chiara', sia per la maggiore percentuale di riflettanza (grafico 1) che per la più elevata luminosità; inoltre, evidenzia un più elevato indice del rosso e del giallo in accordo con quanto riportato da Page *et al.* (2001), un maggior valore di Cromo e, di conseguenza, un minor valore di Tinta (tabella 1). Pertanto, il colore della carne dei maschi si avvicina di più al rosso porpora. Al contrario, Matassino *et al.* (2002), utilizzando 26 vitelloni maschi di razza Marchigiana e 6 femmine, non hanno riscontrato differenze significative fra i due sessi, anche se i maschi mostravano un maggiore contenuto in ossimioglobina. Wulf *et al.* (1997) sottolineano che l'effetto sesso nel determinismo dei parametri colorimetrici potrebbe essere dovuto al diverso 'temperamento' o equilibrio ormonale interno.

Muscolo: il muscolo *Semitendinosus* differisce significativamente dagli altri tre muscoli ($P<0,001$) per la maggiore percentuale di riflettanza e per il più elevato valore di luminosità, di indice del rosso e di Cromo e, quindi, per la Tinta più bassa (tabella 1 e grafico 2). L'indice del giallo risulta più elevato nel muscolo Sm nei confronti degli altri muscoli ($P<0,01-0,001$). Viceversa, il muscolo più 'scuro' è il CLoTB per la minore percentuale di riflettanza e di luminosità, per il minor valore dell'indice del rosso e del Cromo e, quindi, per la Tinta più elevata. Infine, il *Semimembranosus* presenta un maggiore indice del rosso e del giallo e un valore più elevato del Cromo nei confronti del *Longissimus dorsi* ($P<0,001$). Il valore più elevato degli indici colorimetrici del muscolo St concorda con quanto rilevato da Matassino *et al.* (2002) nel confronto con il muscolo LD, nonché da Preziuso e Russo (2004), che su 48 vitelloni di razza Chianina, macellati da 18 a 21 mesi di età, hanno confermato la superiorità statistica del muscolo St nei confronti del CLoTB e del LD.

Lato del campione: il lato superiore del campione di carne, rispetto a quello inferiore che poggia sul vassoio e, quindi, non è esposto all'aria, presenta una maggiore percentuale di riflettanza, soprattutto alle lunghezze d'onda da 620 a 780 nm ($P<0,001$), una maggiore luminosità, un più elevato indice del rosso e del giallo e una maggiore saturazione o purezza di colore (Cromo) ($P<0,001$) (tabella 1 e grafico 3). Tali differenze sono normalmente apprezzabili visivamente nelle vaschette di fettine di carne confezionate sotto vuoto o in atmosfera modificata, anche se la superficie inferiore della fettina, una volta esposta di nuovo all'aria, riprende di nuovo il suo colore rosso brillante per ossigenazione della mioglobina, purché non si superi la shelf life della confezione.

Giorni di frollatura: Nei primi giorni del periodo di frollatura considerato si osserva una diminuzione della percentuale di riflettanza nell'ambito dello spettro dell'arancione-rosso (da 620 a 780 nm) e poi, da 6 a 8 giorni, un aumento della riflettanza, che raggiunge il valore più elevato a 10 giorni ($P<0,001$; grafico 4). I valori medi riportati nella tabella 1 evidenziano che il valore di Luminosità incrementa notevolmente da 4 a 8 giorni di frollatura ($P<0,001$) per poi rimanere invariato a 10 giorni. L'indice del rosso e del giallo e il Cromo diminuiscono significativamente passando dai 4 ai 6 giorni, restano praticamente invariati da 6 a 8 giorni, per poi aumentare notevolmente ($P<0,001$) a 10 giorni di frollatura. La tonalità di colore (Tinta) aumenta, nel senso che si allontana dal colore rosso porpora, passando da 4 a 6 e da 6 a 8 giorni di frollatura ($P<0,001$), per poi diminuire notevolmente a 10 giorni ($P<0,001$). Complessivamente, questi risultati indicano che con una frollatura di 8 giorni si ottiene una carne più 'chiara' per una maggiore luminosità e un minore indice del rosso e del giallo; prolungando la frollatura a 10 giorni la carne diventa più 'rossa' per un incremento dell'indice del rosso e del giallo, un maggior valore di Cromo e, conseguentemente, un valore di Tinta minore. E' opportuno anche precisare che dall'analisi della varianza è emersa una interazione significativa fra il muscolo e i giorni di frollatura. Tale interazione sembra dovuta essenzialmente al fatto che mentre nei muscoli Sm e CloTB la percentuale di riflettanza e di luminosità aumentano ulteriormente passando dagli 8 ai 10 giorni di refrigerazione, nei muscoli St e LD diminuiscono.

Ore di permanenza in frigo del campione: anche se la conservazione in frigorifero della fetta di carne si effettua al buio, non ci sono dubbi che il colore varia nel tempo perché l'ossigeno presente nell'aria gioca un ruolo molto importante sullo stato di ossidazione della mioglobina. In particolare, mentre la percentuale di riflettanza (grafico 5) e la luminosità non varia durante il periodo di conservazione del campione in frigo (tabella 1), l'indice del rosso si mantiene pressoché costante per 48 ore, per poi diminuire significativamente a 72 ore. Questa diminuzione potrebbe essere attribuita all'aumentata ossidazione della mioglobina (Hernandez *et al.*, 1999). Infatti, la percentuale di ossimioglobina presente sulla superficie di taglio del campione, stimata secondo quanto riportato da Mancini *et al.* (2003), risulta pari al 51% dopo un'ora di permanenza in frigorifero, poi diminuisce al 48% dopo 24 ore e al 47% dopo 48 ore, per poi riportarsi al 49% a 72 ore. L'indice del giallo aumenta da 1 a 24 ore ($P<0,001$) per poi restare invariato. Anche il Cromo e la Tinta aumentano da 1 a 24 ore ($P<0,001$), ma poi il Cromo (purezza o saturazione del colore) diminuisce notevolmente da 48 a 72 ore ($P<0,001$), unitamente ad un incremento della Tinta ($P<0,001$), per cui il colore si allontana maggiormente dal colore rosso porpora. Numerosi autori concordano che il croma (C^*) è un buon parametro per descrivere le variazioni di colore poichè al suo diminuire corrisponde la comparsa di un colore bruno (Lizaso, 1998; MacDougall, 1977; Renner and Mazuel, 1985; Smulders and Van Laack, 1989). Inoltre, la stabilità del colore (o differenza di colore) durante il periodo di permanenza del campione in frigorifero, stimata secondo quanto suggerito da Boakye e Mittal

(1996), evidenzia generalmente una diminuzione passando da 1 a 72 ore. In particolare, la differenza di colore risulta maggiore nei maschi rispetto alle femmine, minore nei muscoli CloTB e St rispetto al LD e Sm e più elevata sulla superficie superiore del campione (tabella 2). In relazione al periodo di frollatura, inoltre, si osserva una maggiore stabilità di colore a 48 ore di permanenza in frigo per la carne frollata per 8 giorni, mentre il colore della carne frollata per 10 giorni risulta meno stabile già a 24 ore di permanenza in frigo (tabella 2).

Conclusioni

I risultati della sperimentazione, seppur validi nei limiti del campo di osservazione, hanno confermato che la qualità della carne di vitelloni Marchigiana, per quanto riguarda le caratteristiche colorimetriche, risente dell'effetto di numerosi fattori di variazione, tra i quali il sesso, il muscolo, la durata della frollatura, la parte superiore o inferiore della fettina che si acquista in vaschetta al supermercato e, non ultimo, il tempo di permanenza della carne in frigorifero dopo averla acquistata dal banco del macellaio. In particolare, la carne fornita dai maschi, rispetto alle femmine, è risultata più 'chiara' e con un maggiore indice del rosso e del giallo. Fra i muscoli esaminati, il *Semitendinosus*, che corrisponde al taglio commerciale 'Lacerto' o 'Girello', appare più 'chiaro' e con un maggiore indice del rosso, per cui si avvicina di più al colore rosso porpora, rispetto agli altri tagli considerati (Vacante di spalla = CLoTB; Arrosto di paranza = LD e Vacante di natica o Fesa = Sm) e per tutte queste caratteristiche risulterebbe più accettato dal consumatore.

I risultati hanno evidenziato, altresì, che il periodo ottimale di frollatura dovrebbe essere di 8 giorni. Infatti, la carne risulta più 'chiara' per una maggiore luminosità e un minor indice del rosso e del giallo; prolungando la frollatura a 10 giorni la carne diventa più 'rossa' per un incremento dell'indice del rosso e del giallo, un maggior valore di Cromo e, conseguentemente, con un valore di Tinta minore. Tuttavia, è emerso che il periodo di frollatura ottimale varia anche in funzione del muscolo e/o del taglio: nel Vacante di natica (Sm) e di spalla (CloTB) la percentuale di riflettanza e la luminosità aumentano ancora passando dagli 8 ai 10 giorni di frollatura, mentre nel Lacerto (St) e nell'Arrosto (LD) diminuiscono.

Bibliografia

- BERRY B. W., JOSEPH A.L., WAGNER S.B., JENNINGS T.G., MATSUSHIMA J.K., BRINKS J.S., CARPENTER Z.L., FAGERLIN P.T. (1978). Carcass palatability and retail characteristics of steers and short scrotum bulls. *J. Anim. Sci.*, 47, 60.
- BOAKYE K., MITTAL G.S. (1996). Changes in colour of beef *m. longissimus dorsi* muscle during ageing. *Meat. Sci.*, 42 (3), 347-354.
- D'AGATA M., RUSSO C., PREZIUSO G., FILIPPINI F. (2005). Relazione fra il colore delle carcasse ed alcuni parametri qualitativi della carne di vitelloni chianini. *4th World Italia Beef Cattle Congress*, Italy, Gubbio.

- FISHER C., HAMM R. (1980). Biochemical studies on fast glycolysing bovine muscle. *Meat Sci.*, 4, 41.
- FORREST J.C., ABERLE E.D., HEDRICK H.B., JUDGE M.D., MERKEL R.A. (1975). Principles of meat science. Freeman, S. Francisco, California, X-417.
- FRANCIS F.J., CLYDESDALE, F.M. (1975). Food colorimetry: theory and applications. *The Avi Publishing Co. Inc.*, West Port, Connecticut, X-478.
- GOLL D.E., THOMPSON V.F., TAYLOR R.G., EDMUNDS T. and CONG J. Properties and biological regulation of the calpain system. In: A. OUALI, D.I. DEMEYER, F.J. SMULDERS (Eds.) (1995). *Expression of Tissue Proteinases and Regulation of Protein Degradation as Related to Meat Quality*, ECCEAMST, Utrecht, 47-68.
- GRIFFIN C.L., STIFFLER R.M., SMITH G.C., SAVELL J.W., (1985). Palatability characteristics of loin steaks from Charolais crossbred bulls and steers. *Meat Sci.*, 15, 235.
- HENNING W.R., MOODY W.G., FOX J.D., KEMP J.D. (1973). Effects of aging cooking and storage on tenderness and structure of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* (Abstract), 36, 201.
- HERNÁNDEZ B., APORTA J., SAÑUDO C., SÁENZ. C. (1999). Pigment and colour changes in meat during ageing. *Proc. of the 1st International Congress on pigments in Food Technology*. Sevilla. Spain, pp. 301-305.
- IKEUCHI Y., ITO T., FUKAZAWA T. (1980). Change of regulatory activity of tropomyosin and troponin on acto-heavy-meromyosin ATPase during post mortem storage of muscle. *J. Food Sci.*, 45, 13.
- JEREMIAH L. E., MARTIN A. H. (1977). The influence of sex, within breed of sire groups, upon the histological properties of bovine *longissimus dorsi* muscle during post mortem aging. *Can. J. Anim. Sci.*, 57, 7.
- LAWRIE R.A. (1979). *Scienza della carne*. Edizione italiana a cura di CHIZZOLINI R. (1983). *Edagricole*. Bologna, XVI-348.
- LISTER D., SPENCER G.S.G. (1983). Energy substrate provision in vivo and the changes in muscle pH post mortem. *Meat Sci.*, 8, 41.
- LIZASO G. (1998). Calidad de la carne de las razas Pirenaica y Frisona. Ph.D Thesis. *Universidad Pública de Navarra*. Pamplona. Spain.
- MACDOUGALL, D.B. 1977. Colour in meat. In G.C. BIRCH, J.C. BRENNAN and K.J. PARKER (Ed.): Sensory properties of foods. *Applied Science Publishers, Ltd.*, London. pp. 59.
- MANCINI R.A., HUNT M.C., KROPF D.H. (2003). Reflectance at 610 nanometers estimates oxymyoglobin content on the surface of ground beef. *Meat. Sci.*, 64, 157-162.
- MATASSINO D., COSENTINO E., GIROLAMI A. (1985a). Qualità della carne e fattori che la influenzano. *Prod. Anim.*, IV, 3-4, 101
- MATASSINO D., COSENTINO E., GIROLAMI A., BARONE C.M.A., COLATRUGLIO P., GRASSO F., RAMUNNO L., ZULLO A. (1985b).

- Alcune caratteristiche qualitative della carne di vitelloni appartenenti a 14 tipi genetici. *Agric. Ricerca*, VIII, 50, 7-35.
- MATASSINO D., BARONE C.M.A., COLATRUGLIO P., ZULLO A., FORNATARO D., INCORONATO C., OCCIDENTE M. (2002). Slaughtering traits and meat quality in Marchigiana cattle breed. 48th *International Congress of Meat Science and Technology*, Rome.
- MOORE V.J., YOUNG O.A. (1991). The effects of electrical stimulation, thawing, ageing and packaging on the colour and display life of lamb chops. *Meat Science*, 30, 131-145
- NAPOLITANO F., CARLUCCI A., BRAGHIERI A., CIFUNI G.F., RIVIEZZI A.M., MONTELEONE E., GIROLAMI A. (2001). Influenza della lunghezza del periodo di frollatura su alcune caratteristiche sensoriali della carne di vitelloni Podolici. *Zoot. Nutr. Anim.*, 27, 85-89.
- PAGE K.J., WULF D.M., SCHWOTZER T.R. (2001). A survey of beef muscle color and pH. *J. Anim. Sci.*, 79, 678-687.
- PREZIUSO G., RUSSO C. (2004). Meat quality traits of *longissimus thoracis, semitendinosus* and *triceps brachii* muscles from Chianina beef cattle slaughtered at two different ages. *Italian J. Anim. Sci.*, 30/4, 3, 267-273.
- RENERRE M., MAZUEL J.P. (1985). Relations entre méthodes de mesures instrumentales et sensorielles de la couleur de la viande. *Sciences des Aliments*, 5, 541-557.
- ROBSON R.M. (1995). Myofibrillar and cytoskeletal structures and proteins in mature skeletal muscle cells. In: A. OUALI, D.I. DEMEYER, F.J. SMULDERS (Eds): *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*, ECCEAMST, Utrecht, 311-332.
- SAS, 1997. User's guide 6.12 version. SAS institute Inc., Cary, NC, USA.
- SMULDERS F.J.M., AND VAN LAACK, R.L.J.M. (1989). Colour and colour stability of hamburgers prepared from electrically stimulated, hot vs cold boned closely trimmed beef. *Proceedings of 35th International Congress of Food Science and Technology*, pp 1168-1169.
- WULF D. M., O'CONNOR S. F., TATUM J. D., SMITH G. C. (1997). Using objective measures of muscle color to predict beef *longissimus* tenderness. *J. Anim. Sci.* 75, 684-692

Tabella 1 - Valore medio stimato (m) e coefficiente di variazione (c.v.,%) delle caratteristiche colorimetriche (illuminante D65) in relazione ai fattori di variazione considerati.

Fattore (1)	Caratteristica colorimetrica									
	L*		a*		b*		Croma		Tinta	
	m	cv	m	cv	m	cv	m	cv	m	cv
Sesso										
Maschi	41,85 A	7	14,91 A	28	14,22 A	19	20,67 A	22	44,10 B	13
Femmine	40,24 B	9	12,25 B	31	13,21 B	21	18,09 B	25	47,80 A	12
Muscolo										
CLoTB	39,35 A	8	12,71 A	30	13,15 Aa	19	18,38 A	22	46,64 A	14
LD	40,08 B	6	12,76 A	30	13,18 Aa	20	18,42 A	24	46,59 A	12
Sm	40,11 B	6	14,33 B	31	14,50 Bb	19	20,47 B	24	46,12 A	13
St	44,64 C	6	14,52 B	25	14,03 Bc	19	20,25 B	21	44,45 B	10
Lato										
Inferiore	40,93	8	11,48 B	23	11,86 B	17	16,58 B	18	46,29	12
Superiore	41,16	8	15,68 A	25	15,56 A	13	22,18 A	18	45,61	13
Giorni di frollatura										
4	39,78 A	8	13,80 A	32	13,34 AB	21	19,31 A	25	44,94 Aa	15
6	40,50 B	8	11,79 B	25	12,93 A	22	17,52 B	23	47,85 Bb	8
8	42,26 C	7	11,85 B	27	13,47 B	17	18,01 B	20	49,18 Bc	13
10	41,64 C	8	16,89 C	26	15,12 C	20	22,68 C	22	41,83 Cd	9
Ore di permanenza in frigo										
1	40,88 a	8	13,76 A	20	12,98 Aa	18	18,95 A	18	43,49 A	8
24	41,23 a	8	14,24 A	27	14,12 Bb	21	20,09 B	23	45,19 B	9
48	40,95 a	8	14,03 A	32	14,07 Bb	20	19,97 B	25	45,97 B	14
72	41,12 a	9	12,29 B	35	13,69 Bc	19	18,52 A	25	49,16 C	14

(1) Lettere diverse entro la caratteristica colorimetrica indicano significatività per $P < 0,01$ (lettere maiuscole) e per $P < 0,05$ (lettere minuscole).

Tabella 2 - Valore medio stimato (m) e coefficiente di variazione (c.v.,%) della differenza di colore tra le ore di permanenza in frigo in relazione ai fattori di variazione considerati.

Fattore (1)	Differenza di colore tra ore di permanenza in frigo									
	1-24		1-48		1-72		24-48		48-72	
	m	cv	m	cv	m	cv	m	cv	m	cv
Sesso										
Maschi	2,81	71	3,91	65	4,24	58	3,29 a	37	2,40	36
Femmine	3,87	57	3,68	55	3,98	47	1,90 b	44	3,08	38
Muscolo										
CLoTB	3,13	65	3,56	58	3,90	56	2,68	44	2,80 a	33
LD	3,98	67	4,28	63	4,24	52	2,72	43	3,15 ab	43
Sm	3,07	71	3,76	70	4,46	57	2,80	61	2,79 b	40
St	3,20	60	3,57	56	3,86	52	2,16	40	2,22 ab	34
Lato										
Inferiore	2,72 B	68	3,40 B	68	3,55 B	52	2,64	49	2,31 B	35
Superiore	3,97 A	60	4,18 A	56	4,68 A	52	2,54	47	3,17 A	38
Giorni di frollatura										
4	2,93 A	50	4,24 A	46	4,24	45	3,19 A	49	2,21 a	47
6	3,67 AC	51	3,01 BC	62	3,56	56	3,07 AB	43	2,99 ab	45
8	1,98 B	86	3,00 C	74	4,68	59	2,35 B	48	3,22 b	32
10	4,79 C	52	4,93 A	47	3,98	47	1,75B	41	2,54 ab	38

(1) Lettere diverse entro la caratteristica colorimetrica indicano significatività per $P < 0,01$ (lettere maiuscole) e per $P < 0,05$ (lettere minuscole).

Grafico 1 – Variazione della percentuale di riflettanza in relazione al sesso.

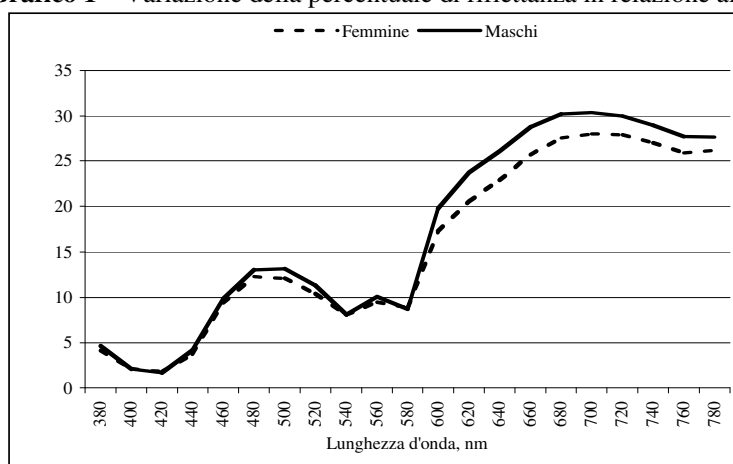


Grafico 2 – Variazione della percentuale di riflettanza in relazione al muscolo.

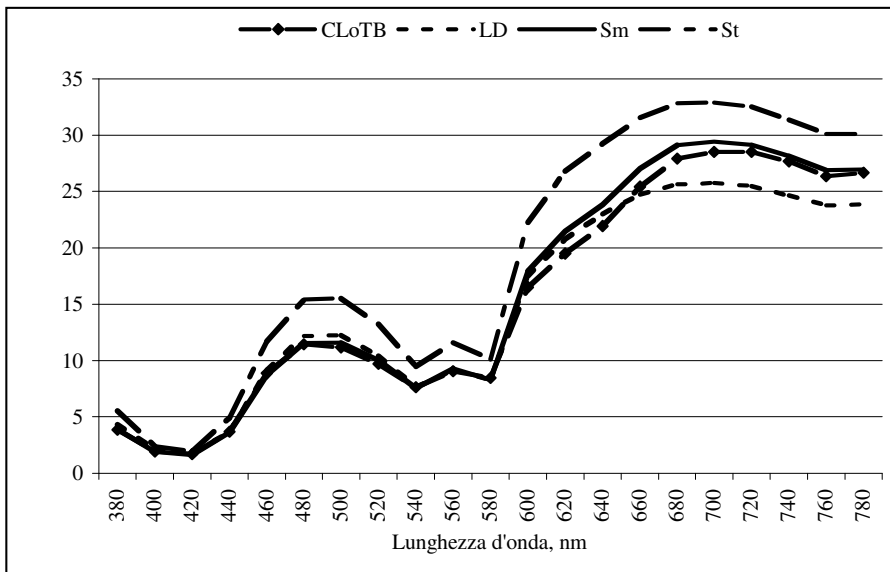


Grafico 3 – Variazione della percentuale di riflettanza in relazione al lato del campione.

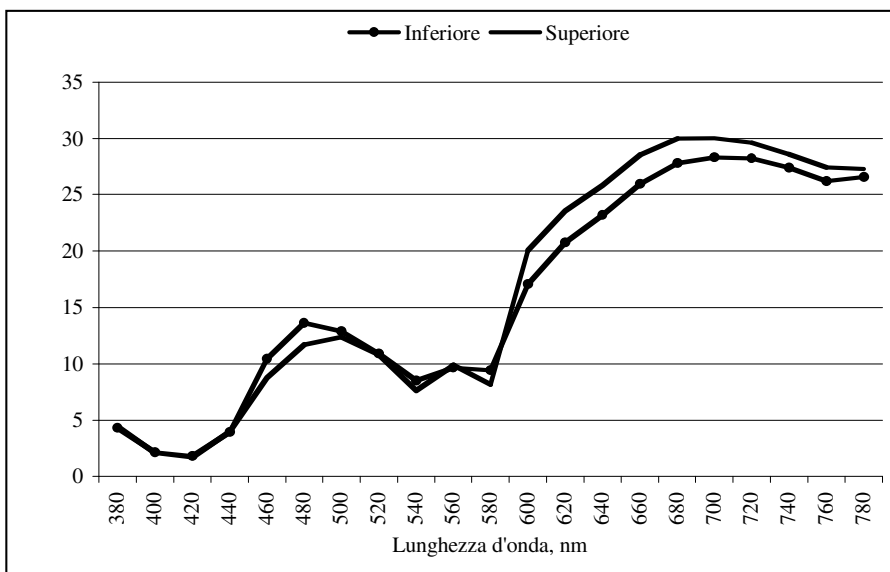


Grafico 4 – Variazione della percentuale di riflettanza in relazione ai giorni di frollatura.

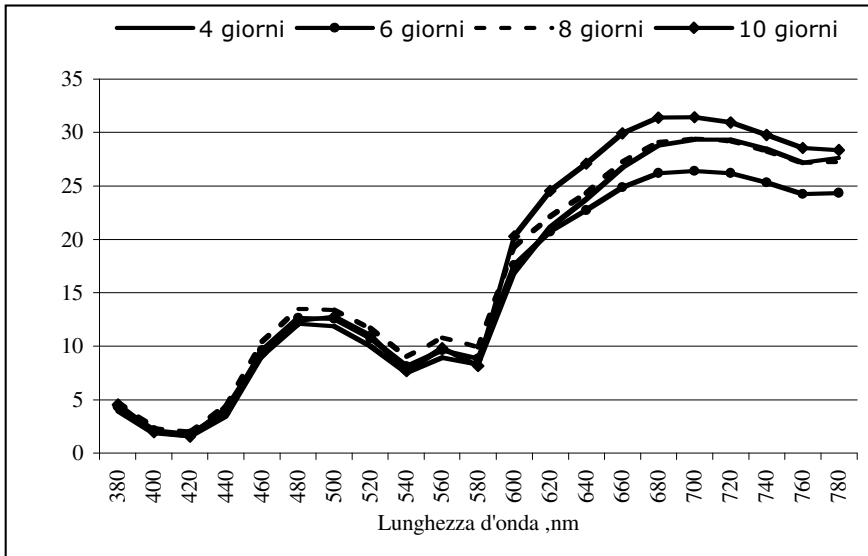
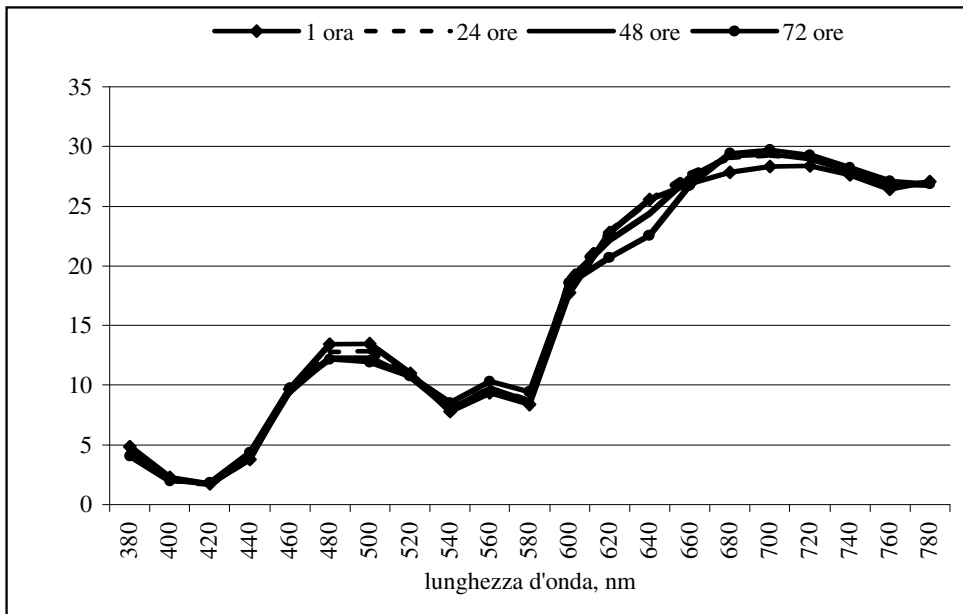


Grafico 5 – Variazione della percentuale di riflettanza in relazione alle ore di permanenza in frigo.



LA TUTELA E LA VALORIZZAZIONE DELLA RAZZA BOVINA MAREMMANA MEDIANTE LA TRACCIABILITÀ MOLECOLARE INDIVIDUALE DELLA PRODUZIONE DELLA CARNE

Ciampolini R*. (1), Lenzi E. (2), Tancredi M. (1), Mazzanti E. (1), Ciani E. (3), Bramante A. (1), Cecchi F. (1)

(2) *Tesista di Laurea*

(1) *Dipartimento di Produzioni Animali, Sezione di Biotecnologie Genetiche, Università di Pisa*

(3) *Dipartimento di Fisiologia Generale ed Ambientale di Bari*

*Autore Corrispondente (rciampol@vet.unipi.it – tel: 050/2216877 – Cell: 3491809324)

***Questo progetto è stato finanziato dall'ARSIA e costituisce un programma di trasferimento operativo.**

Riassunto – In questo lavoro si dimostra la possibilità di implementare una metodologia di genetica molecolare in grado di realizzare la tracciabilità individuale dei capi bovini di razza Maremmana, allevati presso l'Azienda Regionale di Alberese di Grosseto, impiegando 11 marcatori genetici STRs (Short Tandem Repeats o microsatelliti).

Nel complesso, sono stati analizzati 62 campioni di DNA genomico estratto a partire da un prelievo di circa 3 ml di sangue e 62 campioni di DNA genomico estratto a partire da campioni di carne.

Si propone inoltre di valutare la possibilità di implementare tale metodologia nella routine degli autocontrolli aziendali, in modo da garantire uno strumento affidabile di tracciabilità in ogni fase produttiva e quindi per la valorizzazione del prodotto.

Parole Chiave: Tracciabilità individuale, Carne bovina, Maremmana, Marcatori microsatelliti STRs

Introduzione

Nell'ultimo decennio, le preoccupazioni dei consumatori riguardo la sicurezza alimentare e la richiesta di informazione in merito ai prodotti acquistati sono significativamente cresciute, a seguito di crisi legate alla presenza di contaminanti negli alimenti ed all'insorgenza di epidemie animali. Come conseguenza, sono stati imposti sistemi obbligatori di tracciabilità del bestiame basati su certificazioni cartacee e supporti elettronici lungo l'intera filiera di produzione e trasformazione. In maniera concomitante, i recenti mutamenti nella domanda hanno condotto ad una richiesta crescente nei confronti di prodotti tipici e tradizionali, riconducibili a

specifiche regioni geografiche ed espressione dell'eredità storica e culturale di aree territoriali ben definite (DOP, IGP). In un tale scenario, si assiste ad un interesse crescente da parte dell'industria delle carni nella definizione di tecniche in grado di certificare l'origine razziale dei prodotti carnei, anche in considerazione del fatto che le denominazioni di razza sono sempre più frequentemente impiegate quali marchi commerciali in grado di costituire dei veri e propri strumenti di marketing per lo sviluppo sostenibile di sistemi di produzione nei contesti di aree marginali. La possibilità di utilizzare metodi basati sull'analisi del DNA per realizzare dei sistemi di assegnazione razziale è stata precedentemente dimostrata per diverse specie di interesse zootecnico (Bjornstad et al., 2001; Blott et al., 1999; Ciampolini et al., 2000; Hansen et al., 2001; MacHugh et al., 1998; Maudet et al., 2002; Roques et al., 1999).

Test in grado di definire l'identità razziale rappresentano, pertanto, degli utili strumenti per la validazione dell'origine e dell'autenticità dei prodotti di origine animale. I metodi basati sull'analisi del DNA risultano particolarmente adatti, in quanto il materiale genetico costituisce un codice durevole e stabile in grado di preservare l'informazione relativa al soggetto ed alla sua origine razziale. Molteplici sono i metodi sviluppati da genetisti di popolazione coinvolti nello studio di specie selvatiche per l'attribuzione di soggetti di origine ignota a popolazioni note. Tali procedure sono applicabili anche alle specie di interesse zootecnico lungo l'intera catena produttiva e distributiva al fine di assegnare gli stessi animali ed i tagli di carne da essi derivati alla razza di origine. A tal proposito sono state adottate, ad oggi, diverse tipologie di marcatori genetici, sebbene i marcatori STR (Short Tandem Repeats) abbiano dimostrato di costituire lo strumento di elezione in tali studi; in aggiunta, la tipizzazione di loci STR è stata realizzata con successo anche a partire da carne in vario modo trattata termicamente (bollita, arrostita, stufata). Il presente progetto si propone di realizzare un sistema di tracciabilità individuale della carne bovina basato sulla tipizzazione di marcatori genetici in campioni di carne prelevati presso la struttura di macellazione, allo scopo di poter garantire al consumatore la veridicità delle informazioni riportate nell'etichetta cartacea. Il vantaggio principale dell'approccio consiste, infatti, nella non falsificabilità del riconoscimento individuale ottenuto con tecniche di biologia molecolare applicate al DNA genomico. Il genotipo individuale è unico per ciascun animale e non è modificabile; esso può essere controllato indipendentemente, dalla nascita alla tavola del consumatore, fornendo quindi la possibilità di monitorare con estrema accuratezza l'intera filiera produttiva.

Materiali e metodi

Durante la prima fase di realizzazione del progetto di ricerca si è concluso il prelievo dei campioni di carne dalle mezzene dei soggetti destinati a macellazione nei tempi utili previsti per la realizzazione delle indagini di tracciabilità individuale (età di maturità alla macellazione dei vitelloni da un minimo di 15 a un massimo di

24 mesi). I capi sono stati macellati presso le strutture I.C.A.M. (Grosseto) e commercializzati presso l'Azienda Regionale di Alberese (Grosseto).

Il prelievo di circa 3 ml di sangue da 62 animali è stato realizzato al momento del raggruppamento della mandria in recinti, per effettuare la tradizionale operazione della "spocciatura" ovvero, la separazione dei vitelli dalle madri per lo svezzamento. Successivamente, in sede di macellazione, sono stati prelevati 62 campioni di carne.

Tutto il materiale biologico prelevato è stato successivamente trasferito nelle strutture del Laboratorio di Biotecnologie Genetiche, dove è stato conservato alla temperatura di -18°C.

Si è passati in seguito all'estrazione del DNA genomico a partire sia dai campioni di carne collezionati, che dai campioni di sangue mediante il Kit di estrazione GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit, SIGMA.

Durante la seconda fase di realizzazione del progetto sono state portate a termine le tipizzazioni molecolari e si è proceduto all'analisi statistica dei dati.

Per l'analisi della variabilità genetica della popolazione, le tipizzazioni molecolari sono state realizzate adottando un panel di undici marcatori microsatellite appartenenti al Kit commerciale StockMarks for Cattle® Applied Biosystems, dislocati ciascuno su di un cromosoma diverso e con un livello di polimorfismo, espresso in termini di numero medio di alleli attesi da letteratura, pari a 8,7. Allo scopo di ottimizzare l'implementazione operativa delle procedure di genotipizzazione, gli undici marcatori sono organizzati in tre reazioni di multiplex PCR, mediante marcatura con fluorocromi diversi (FAM, a fluorescenza blu; NED, a fluorescenza gialla; HEX, a fluorescenza verde) e combinazione di microsatelliti marcati con lo stesso fluorocromo ma con range allelici diversi. Le principali informazioni relative ai marcatori impiegati nel presente lavoro sono riassunte nella tabella 1.

Allo scopo di realizzare la verifica dell'identità individuale dei soggetti presi in esame, da prelievi di carne effettuati in sede di macellazione, è stato estratto il DNA genomico impiegato per la tipizzazione molecolare dei campioni di riferimento. A tal proposito, è stato adottato lo stesso panel di marcatori microsatellite utilizzato per la genotipizzazione del DNA estratto a partire dal sangue prelevato dall'animale in vita. Ciò allo scopo di poter verificare l'identità individuale attraverso il confronto dei profili allelici multilocus. In figura 1 sono riportati, come esempio, gli elettroferogrammi ottenuti a partire dal DNA genomico estratto da sangue (A) e da carne (B) dell'individuo IT053990001210.

I dati molecolari sono stati analizzati allo scopo di valutare, per ciascun marcatore, il livello medio di polimorfismo all'interno della popolazione in esame. Sono stati, pertanto, calcolati il numero di alleli osservati, il livello di eterozigosità osservata ed attesa ed il rispetto delle proporzioni di Hardy-Weinberg utilizzando il pacchetto statistico Arlequin (Schneider et al., 2000).

Allo scopo di fornire una misura statistica del livello di confidenza associato ad ogni attribuzione di identità individuale, è stata calcolata la Probabilità di Identità

(*PI*) genotipica di due individui scelti a caso nella popolazione; in altre parole, si calcola, sulla base delle frequenze alleliche osservate, la probabilità che due individui, presi a caso nella popolazione di riferimento, condividano esattamente lo stesso profilo allelico multi-locus. I fattori che influiscono sulla Probabilità di Identità sono rappresentati dal numero di alleli, dalla distribuzione delle frequenze alleliche e dall'eterozigosità dei marcatori impiegati nella popolazione in esame.

Discussione dei risultati

I risultati delle analisi statistiche sono riassunti nelle tabelle 2, 3 e 4. Complessivamente, il numero medio di alleli osservati è pari a 7 (tab. 2), valore che si pone leggermente al di sotto della media ottenuta integrando i risultati osservati per gli stessi loci da Peelman et al. (1998) su quattro diverse razze belga e da Moioli et al. (2004) su tre diverse razze italiane (8,7; tab. 1).

Considerando la numerosità del nostro campione, l'appartenenza di tutti i soggetti ad una sola razza (Maremmana) ed il grado di imparentamento medio presente tra i soggetti analizzati (con 10 gruppi familiari di mezzi-fratelli di padre), tale valore testimonia, comunque, un elevato livello di eterogeneità genetica presente attualmente nella razza Maremmana.

In aggiunta, se si confrontano i risultati ottenuti con quanto osservato da Moioli et al. (2004) specificamente nella razza Maremmana, ma limitatamente ai sette loci analizzati che risultano anche condivisi dal presente lavoro (TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, ETH3, ETH225) emerge una sostanziale coerenza dei risultati (tab. 3).

I valori di eterozigosità variano da 0,508 (TGLA53) a 0,924 (TGLA227), con un valore medio di 0,646 a fronte di un valore di eterozigosità atteso pari a 0,692. Il test del rispetto delle proporzioni di Hardy-Weinberg ha evidenziato la presenza di un solo marcatore (TGLA53) sul cromosoma 16 in significativo disequilibrio ($P < 0,001$).

Il confronto dei doppi profili allelici multilocus (dall'animale in vita e dopo macellazione) per i campioni analizzati ha consentito di verificare e confermare l'identità nella totalità dei soggetti in esame. In particolare, la metodica ha consentito di evidenziare uno scambio dei campioni di carne prelevati presso la struttura di macellazione tra il soggetto con matricola IT053000624594 ed il soggetto con matricola IT053000616426, entrambi prelevati lo stesso giorno. Lo scambio è stato confermato dall'operatore incaricato della raccolta del materiale che, al momento del prelievo, aveva annotato entrambe le matricole di riconoscimento dei capi abbattuti quel giorno, ma senza assegnarle ai rispettivi campioni. Inoltre, è stato possibile mettere in evidenza uno scambio di materiale biologico anche tra il soggetto con matricola IT053000624587 ed il soggetto con matricola IT053000624560. Allo scopo di escludere che lo scambio fosse avvenuto nelle fasi di estrazione ed amplificazione del DNA, si è proceduto ad una nuova estrazione e successiva amplificazione di entrambi i soggetti, confermando la non identità dei profili allelici multilocus tra il campione di DNA estratto dal sangue

dell'animale in vita e quello estratto dalla carne dopo la macellazione. Considerando che i due soggetti sono stati abbattuti in periodi diversi (a distanza di 5 mesi l'uno dall'altro), uno scambio a carico del campione di carne appare alquanto improbabile; ciò farebbe propendere per la possibilità che lo scambio del materiale biologico sia avvenuto in fase di prelievo del campione di sangue dall'animale in vita.

Dal confronto dei profili allelici è stato possibile anche verificare la compatibilità del genotipo multilocus di undici soggetti, appartenenti ad una famiglia di mezzi fratelli paterni, con il genotipo multilocus del padre, di cui era disponibile il materiale biologico per la tipizzazione molecolare (tab. 5).

Il genotipo multilocus di ciascun individuo, infatti, deriva dalla combinazione degli alleli paterni e materni. Ciò implica che, almeno uno dei due alleli che compongono il genotipo *single-locus* deve corrispondere ad almeno uno dei due alleli presenti nel genotipo paterno a quel medesimo locus. Tale condizione deve, inoltre, essere verificata per tutti i loci al fine di poter affermare la compatibilità tra il genotipo multilocus del padre e quello dei figli.

In relazione allo studio condotto sui campioni analizzati, appartenenti a soggetti di razza Maremmana allevati presso l'Azienda Regionale di Alberese (Grosseto), i valori di *PI* riscontrati si collocano nel range compreso tra 0.00000000282 (probabilità che due individui, presi a caso nella popolazione di riferimento, condividano esattamente lo stesso profilo allelico multi-locus pari a 1 ogni $3,54 \cdot 10^9$ confronti) e 0.0000000377 (probabilità che due individui, presi a caso nella popolazione di riferimento, condividano esattamente lo stesso profilo allelico multi-locus pari a 1 ogni $2,65 \cdot 10^8$ confronti), a conferma della validità e della solidità della metodica di verifica dell'identità individuale su base molecolare.

Conclusioni

Le ricerche condotte hanno consentito di confermare la validità dell'approccio basato sulla tipizzazione di marcatori genetici quale strumento per la realizzazione di un sistema di tracciabilità individuale della carne bovina anche nella razza Maremmana, oggetto del presente lavoro, con particolare riferimento alla realtà produttiva rappresentata dall'Azienda Regionale di Alberese. Il confronto dei profili allelici multilocus ottenuti a partire da DNA estratto, rispettivamente, da sangue (prelevato dall'animale in vita) e carne (prelevata presso la struttura di macellazione) per i campioni analizzati ha consentito, infatti, di verificare l'identità degli individui nella totalità dei soggetti in esame. La metodica adottata ha consentito, altresì, di mettere in evidenza scambi di materiale biologico intercorsi presumibilmente nelle fasi di prelievo delle matrici biologiche impiegate (sangue e carne); ciò consente di convalidare gli attributi di estrema affidabilità ed accuratezza dell'approccio molecolare quale strumento di monitoraggio, richiamando, al contempo, l'attenzione sull'importanza di un sistema di controllo dell'identità individuale quale strumento di garanzia per il consumatore lungo l'intera filiera produttiva.

Infine, la possibilità di costituire in futuro una banca genomica rappresentativa dell'intera razza Maremmana, consente di intravedere la possibilità di un approfondimento delle metodiche di studio attualmente disponibili per la verifica dell'identità razziale e di prevederne una concreta applicabilità anche nei diversi contesti produttivi della razza Maremmana.

Bibliografia

- Moioli, B., Napoletano, F., Catillo G., 2004. Genetic Diversity between Piedmontese, Maremmana, and Podolica Cattle Breeds. *Journal of Heredity*. 95(3):250-256.
- Peelman, L. J.; Mortiaux, F.; Van Zeveren, A.; Dansercoer, A.; Mommens, G.; Coopman, F.; Bouquet, Y.; Burny, A.; Renaville, R.; Portetelle, D., 1998. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics*. 29(3):161-167.
- Schneider, S., D. Rosseli, and L. Excoffier, 2000: Arlequin v. 2000: A Software for Population Genetics Data Analysis. University of Geneva, Geneva, Switzerland)
- Bjornstad et al., 2001; Blott et al., 1999; Ciampolini et al., 2000; Hansen et al., 2001; MacHugh et al., 1998; Maudet et al., 2002; Roques et al., 1999.

Tabella 1. Informazioni relative ai marcatori impiegati.

Multiplex	Locus	Cromosoma	Range allelico	N _a ⁽¹⁾	Eterozigosità	Riferimenti bibliografici
1	TGLA227	18	79-105	8,5	0,83	Peelman et al., 1998 -
1	BMV2113	2	121-141	7,0	0,81	Peelman et al., 1998 -
1	TGLA53	16	146-184	14,4	0,85	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
1	ETH10	5	209-227	7,4	0,74	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
1	SPS115	15	242-260	6,9	0,56	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
2	TGLA126	20	115-125	6,3	0,67	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
2	TGLA122	21	131-181	16,1	0,78	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
2	INRA23	3	-	-	-	- -
3	ETH3	19	109-129	7,8	0,72	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
3	ETH225	9	134-154	7,9	0,75	Peelman et al., 1998 Moidi et al., 2004
3	BMV1824	1	178-190	4,8	0,70	Peelman et al., 1998 -
Media				8,7	0,74	

⁽¹⁾ Numero medio di alleli. E' stata calcolata la media aritmetica tra il numero medio di alleli osservato nelle quattro razze belga di Peelman et al. (1998) ed il numero medio di alleli osservato nelle tre razze italiane di Moioli et al. (2004).

Tabella 2. Range allelici e numero di alleli osservati per ciascun marcatore.

Multiplex	Locus	Cromosoma	Range allelico	$N_a^{(1)}$
1	TGLA227	18	80-102	7
1	BM2113	2	123-141	6
1	TGLA53	16	149-183	11
1	ETH10	5	208-222	6
1	SPS115	15	242-254	5
2	TGLA126	20	112-128	6
2	TGLA122	21	133-189	10
2	INRA23	3	196-216	6
3	ETH3	19	111-125	6
3	ETH225	9	133-149	6
3	BM1824	1	178-190	4
Media				7

⁽¹⁾ Numero di alleli osservati nella popolazione di soggetti di razza Maremmana analizzati.

Tabella 3. Confronto tra il numero di alleli osservati in soggetti di razza Maremmana da Moioli et al. (2004) ed il numero di alleli osservati nel presente lavoro.

Locus	$N_a^{(1)}$	$N_a^{(2)}$
TGLA53	12	11
ETH10	5	6
SPS115	6	5
TGLA126	6	6
TGLA122	11	10
ETH3	8	6
ETH225	6	6
Media	7,7	7,1

⁽¹⁾ Numero medio di alleli nella popolazione Maremmana analizzata da Moioli et al. (2004).

⁽²⁾ Numero medio di alleli nella popolazione Maremmana analizzata nel presente lavoro.

Tabella 4. Eterozigosità osservata ed attesa e test esatto del rispetto delle proporzioni di Hardy-Weinberg nella popolazione in esame

Locus	Eterozigosità osservata	Eterozigosità attesa	P
TGLA227	0,924	0,826	0,412
BM2113	0,667	0,729	0,316
TGLA53	0,508	0,800	0,000
ETH10	0,523	0,551	0,737
SPS115	0,569	0,504	0,133
TGLA126	0,758	0,711	0,475
TGLA122	0,652	0,776	0,019
INRA23	0,632	0,629	0,362
ETH3	0,621	0,719	0,144
ETH225	0,591	0,704	0,050
BM1824	0,667	0,657	0,530
Media	0,646	0,692	

Figura 1. Profili elettroforetici relativi al soggetto IT053990001210 tipizzato per gli undici marcatori, organizzati in tre reazioni di multiplex PCR. A sinistra (A) gli elettroferogrammi ottenuti a partire dal DNA genomico estratto da sangue; a destra (B) gli elettroferogrammi ottenuti a partire dal DNA genomico estratto da carne.

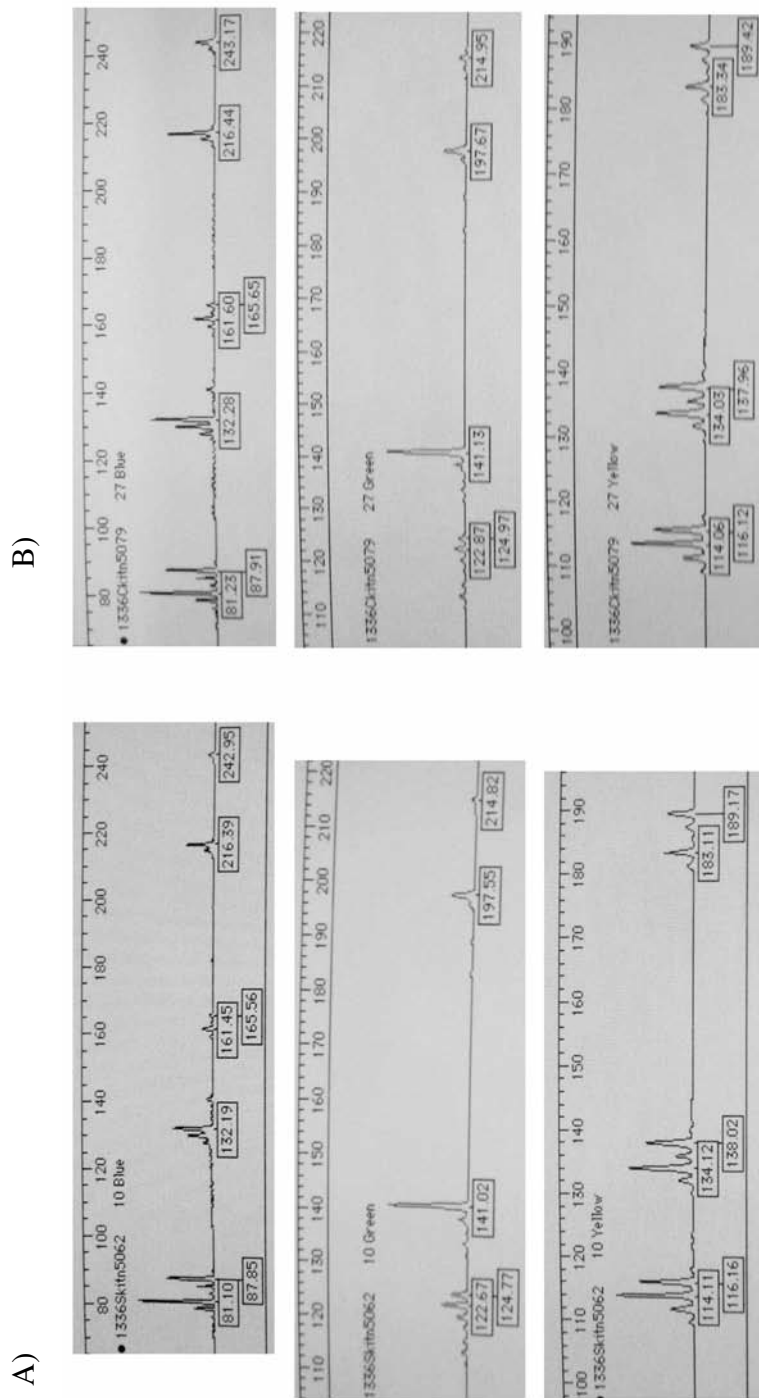


Tabella 5. Verifica della compatibilità genotipica dei profili allelici multilocus dei componenti di una famiglia di mezzi-fratelli paterni e del rispettivo padre.

Individuo	Locus																					
ID	TGLA227	BM2113	TGLA53	ETH10	SPS115	TGLA126	TGLA122	INRA23	ETH3	ETH225	BM1824											
IT053000603271	1	5	4	5	2	5	3	3	1	2	3	6	4	9	3	3	2	3	2	2	3	4
IT053000624608	1	-	-	4	2	5	3	-	2	-	3	6	9	-	-	3	3	-	2	-	-	4
IT053000624605	1	-	-	5	2	-	3	-	1	-	3	-	-	9	3	-	2	-	-	2	3	-
IT053990001168	-	5	4	-	2	-	3	-	1	-	3	6	4	-	3	-	2	-	2	-	3	4
IT053000624610	1	-	-	5	2	-	3	-	1	-	3	-	-	9	3	-	2	-	-	2	3	-
IT053990001180	1	-	5	-	5	-	3	-	1	-	3	6	-	4	-	3	2	-	2	-	4	-
IT053990001208	5	-	-	4	5	-	3	-	1	2	3	-	-	4	-	3	3	-	2	-	3	-
IT053990001212	1	5	-	4	2	-	3	-	1	-	-	6	-	4	3	-	3	-	-	2	-	4
IT053990001174	1	5	5	-	2	-	3	-	1	2	3	-	-	9	3	-	3	-	2	-	3	4
IT053000624590	1	-	-	5	5	-	3	-	1	2	-	6	-	4	3	-	2	-	2	-	3	4
IT053000616410	-	5	-	4	2	-	3	-	1	2	3	6	4	-	3	-	3	-	2	-	-	4
IT053000624549	1	-	5	-	2	-	3	-	1	-	3	6	4	-	-	3	2	3	-	2	-	4





AMPLIFICAZIONE DI SEQUENZE DI DNA MITOCONDRIALE BOVINO DA CARNE SOTTOPOSTA A TRATTAMENTI TERMICI

Musto M. (1), Satriano M. L. (2)

(1) *Metapontum Agrobios S.r.l. – s.s. 106 Jonica Km 448.2, 75010 Metaponto (MT)*

(2) *Libero Professionista*

Riassunto – La possibilità di estrarre il DNA di bovino e amplificarlo tramite PCR è stata verificata su campioni di *M. extensor carpi radialis* sottoposti a diversi trattamenti termici: conduzione (cottura alla piastra), convezione (bollitura) e irraggiamento (microonde). Differenze altamente significative sono state riscontrate in termini di resa di DNA estratto e purezza della soluzione ($P < 0,001$). Ad eccezione della convezione, tutti i trattamenti termici hanno permesso di ottenere una maggiore resa di DNA rispetto al controllo (carne cruda). Il più alto livello di degradazione del DNA è stato riscontrato nei campioni cotti al microonde. Nonostante le forti differenze, l'amplificazione di un frammento specie-specifico del gene *cyt b* (lungo 116 bp) è sempre avvenuta con successo. Il presente lavoro evidenzia l'alta sensibilità del metodo basato sullo studio del DNA e ne conferma la validità nel riconoscimento della specie in caso di frodi alimentari.

Parole Chiave: Carne, Citocromo b, DNA, Reazione a catena della polimerasi (PCR), Trattamenti termici.

Introduzione

Le frodi alimentari (alterazione, adulterazione, sofisticazione e contraffazione) rappresentano un problema in continua espansione e, come attestano le ultime cronache, di forte attualità. Le ripercussioni sanitarie, socioeconomiche, culturali e giuridiche che comportano le pratiche fraudolente, hanno richiamato l'attenzione sulla necessità di strumenti di analisi per l'identificazione e la quantificazione degli ingredienti utilizzati durante la produzione degli alimenti. Le metodiche classiche, come ad esempio l'elettroforesi capillare (Vallejo *et al.*, 2005), la gascromatografia (Toorop *et al.*, 1997) o la diagnosi immunologica (Giovannacci *et al.*, 2004), pur essendo affidabili, si rivelano complesse e costose per le analisi di *routine*, oltre che poco sensibili nel caso di prodotti trasformati e/o sottoposti a trattamenti termici.

Una valida alternativa è rappresentata da quelle tecniche basate sullo studio del DNA, in quanto la molecola è inalterabile nel corso della vita dell'individuo, presente in tutte le cellule e relativamente stabile ai diversi trattamenti a cui vanno

incontro gli alimenti. Tra le varie tecniche, la reazione a catena della polimerasi (PCR), basandosi sullo stesso meccanismo di duplicazione del DNA che si verifica nelle cellule, è stata largamente applicata in molti campi, come quello della identificazione della specie da cui è stata ottenuta la carne. A tale scopo, molti ricercatori (Tartaglia *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2000; Bottero *et al.*, 2003; Rodriguez *et al.*, 2004) si sono cimentati nell'amplificazione di sequenze del DNA mitocondriale (mtDNA), più abbondante di quello nucleare (Robin e Wong, 1988; Unseld *et al.*, 1995). Tra i geni mitocondriali più studiati vi è quello del citocromo b (*cyt b*), sulle cui sequenze sono stati disegnati *primer* in grado di discriminare tra le carni di diverse specie (Chikuni *et al.*, 1994a, b; Matsunaga *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2007).

Sebbene la maggior parte delle ricerche riporti risultati positivi in termini di PCR, risalendo addirittura alla composizione di preparati a base di carne di più specie, poche notizie si hanno sull'effetto dei diversi metodi di cottura. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di verificare l'amplificabilità di sequenze del gene *cyt b*, specifiche di bovino, a partire da DNA estratto da carne sottoposta a diversi trattamenti termici.

Materiali e metodi

Preparazione dei campioni

L'analisi è stata condotta sul *M. extensor carpi radialis* di un bovino macellato a 12 mesi di età. Il muscolo è stato isolato dalla mezzena destra dopo la frollatura e privato del grasso superficiale prima di procedere al taglio. La riduzione in fettine dello spessore di 1,8 cm è avvenuta tagliando il muscolo in maniera perpendicolare all'orientamento delle fibre muscolari.

Le fettine sono state riunite in 4 gruppi da sottoporre a cottura attraverso i seguenti metodi di trasmissione del calore (tab. 1): conduzione (PI), convezione (BO) e irraggiamento (MO); le fettine di uno dei quattro gruppi non sono state sottoposte a cottura ma conservate a +4°C (CR, controllo).

Per tutti i metodi di cottura utilizzati (CR compreso), l'esposizione è durata 5 minuti; dopo ciascun trattamento, i campioni sono stati sgocciolati, congelati in N₂ liquido e conservati a -40°C in attesa delle analisi.

Estrazione del DNA

Le fettine di ciascun gruppo (trattamento) sono state finemente triturate in N₂ liquido per ottenere una polvere omogenea. A 300 mg di quest'ultima sono stati aggiunti 1,5 mL di un buffer d'estrazione (100 mM di Tris-HCl, pH 9,0; 100 mM di NaCl; 5 mM di EDTA; 1% di SDS; 100 µL di 0,20 mg/mL proteinasi K) realizzato sulla base delle indicazioni di Sambrook *et al.* (1989). Dopo un'incubazione a +55°C per 2 ore, sono state effettuate due estrazioni con fenolo:cloroformio (1:1, v/v) e due con cloroformio:alcol isoamilico (24:1, v/v). Gli acidi nucleici sono stati precipitati (in 10 minuti a -20°C) aggiungendo un volume di alcool isopropilico; dopo la centrifugazione (13000 rpm a +4°C per 10

minuti), il *pellet* è stato risospeso in 100 μL di acqua sterile (Millipore MQ water) e l'RNA è stato degradato per 1 ora a $+37^\circ\text{C}$ aggiungendo 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ di RNAsi A. Il DNA è stato riestratto con nuovi lavaggi a base di fenolo:cloroformio e cloroformio:alcol isoamilico, dopodiché è stato precipitato (in 20 minuti a -20°C) aggiungendo un volume di alcool isopropilico e 1/5 di acetato d'ammonio 5M. Il *pellet*, infine, è stato lavato due volte con alcool etilico (70%, v/v), asciugato e risospeso in 100 μL di acqua sterile (Millipore MQ water).

Qualità, resa e purezza del DNA

La qualità del DNA è stata verificata attraverso una corsa elettroforetica (in tampone TAE 1X) su gel d'agarosio (1%, w/v) colorato con bromuro di etidio.

La determinazione della resa del DNA estratto (in $\mu\text{g}/\text{g}$ di tessuto) è avvenuta sulla base della lettura spettrofotometrica ultravioletta (NanoDrop® ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer).

La purezza della soluzione (A_{260}/A_{280}) è stata calcolata dal rapporto delle letture a 260 e 280 nm. Tale rapporto deve essere $\geq 1,8$ per una preparazione pura di DNA; in caso contrario ($< 1,8$), è presente una contaminazione di natura proteica.

Amplificazione del DNA

L'amplificabilità degli estratti è stata verificata attraverso la reazione a catena della polimerasi (PCR). Ciascuna reazione è stata eseguita in un volume finale di 50 μL utilizzando 0,1 μg di DNA genomico, 10 mM di Tris-HCl (pH 8,8 a 25°C), 1,5 mM di MgCl_2 , 50 mM di KCl, 0,1% di Triton X-100, 0,2 mM di dNTPs, 0,4 mM per *primer* e 2,5 U di *Taq* polimerasi (DyNAzyme™ II DNA Polymerase, Finnzymes).

La coppia di *primer* utilizzata (Bovcytbf: 5'-CGGAGTAATCCTTCTGCTCACAGT-3' e Bovcytbr: 5'-GGATTGCTGATAAGAGGTTGGTG-3') è stata disegnata su una sequenza del gene *cyt b* specifica di bovino (GenBank® Accessione # D34635) per produrre un frammento lungo 116 bp (Dooley *et al.*, 2004).

Le amplificazioni sono state realizzate utilizzando il termociclatore PTC-200™ (Peltier Thermal Cycler) con il seguente protocollo: una denaturazione iniziale a 95°C per 4 minuti quindi 35 cicli, 94°C per 30 secondi, 60°C per 1 minuto e 72°C per 1 minuto ed un'estensione finale di 72°C per 10 minuti. Nell'amplificazione degli estratti sono stati preparati dei "bianchi di PCR" (costituiti dalle stesse soluzioni e dagli stessi tamponi sopra menzionati, ma privi di DNA) per dimostrare l'assenza di contaminazioni durante tutte le fasi di lavoro.

I prodotti di PCR sono stati visualizzati, dopo una corsa elettroforetica (in tampone TAE 1X), su gel d'agarosio (1,5%) colorato con bromuro di etidio.

Analisi statistica

I dati ($n = 30$) di ciascun gruppo (trattamento) e relativi alla resa di DNA estratto e alla purezza della soluzione (A_{260}/A_{280}) sono stati sottoposti ad analisi della

varianza (ANOVA). Le differenze con un *p-value* sotto 0,05 sono state considerate significative e le medie sono state comparate con il test di Tukey (HSD).

Il numero di prodotti amplificati tramite PCR è stato espresso come rapporto percentuale (%).

Discussione dei risultati

Qualità, resa e purezza del DNA

L'analisi dei dati (tab. 2) ha evidenziato differenze altamente significative tra i metodi di trasmissione del calore in termini di resa di DNA estratto ($P < 0,001$). L'irraggiamento (MO), in particolare, ha consentito di ottenere 1071,46 μg di DNA per g di tessuto contro gli 882,80 della conduzione (PI) e i 284,57 della convezione (BO). Dal controllo (CR) è stato possibile estrarre 490,30 $\mu\text{g/g}$, un valore ben al di sopra dei 357,8 $\mu\text{g/g}$ riportati in precedenti lavori (Zhang *et al.*, 2007): tale risultato può essere in parte ascrivibile alle modifiche apportate al protocollo di estrazione di Sambrook *et al.* (1989).

La quantificazione diretta del DNA su gel d'agarosio (fig. 1) ha condotto più o meno alle stesse conclusioni: infatti, confrontando l'intensità della banda del DNA di riferimento ($M = 150 \text{ ng}$) con quella degli estratti, le forti differenze riscontrate a carico dei diversi metodi di cottura in termini di resa di DNA vengono confermate. È evidente che, al contrario di quanto è accaduto nei campioni non trattati termicamente (CR), la trasmissione del calore abbia favorito la distruzione delle membrane cellulari e/o nucleari permettendo un maggiore rilascio di DNA da parte delle cellule muscolari. Tale evento, così come il restringimento delle fibre, l'aggregazione e la formazione di un gel di proteine miofibrillari e proteine sarcoplasmatiche e il restringimento e la solubilizzazione del tessuto connettivo, sarebbe innescato dalla denaturazione delle diverse proteine e del tessuto connettivo durante la cottura (Hamm, 1977; Offer, 1984; Rowe, 1989; Tornberg, 2005).

Sebbene la resa sia risultata particolarmente elevata attraverso l'irraggiamento, proprio il calore generato dalle molecole di acqua a seguito dell'esposizione dei campioni al flusso di onde elettromagnetiche ha fatto sì che il DNA rinvenuto risultasse perlopiù degradato e costituito da frammenti di basso peso molecolare (fig. 1, corsia 4). Questo passaggio dalla struttura ordinata della doppia elica a quella più disordinata del DNA denaturato – in cui i monomeri hanno maggiore libertà di movimento rispetto alla molecola in generale – ha prodotto un evidente effetto ipercromico, ovvero un maggior assorbimento della luce ultravioletta a 260 nm. Dal momento che tanto più elevato è l'assorbimento a questa lunghezza d'onda e tanto più elevata è la resa di DNA estratto, laddove il livello di degradazione era maggiore (i.e. irraggiamento) è stata riscontrata anche una maggiore resa. Leggermente degradato è apparso anche l'estratto ottenuto a seguito della bollitura dei campioni (corsia 3), mentre meno evidente è risultato il danno prodotto da PI (corsia 2) e CR (corsia 1).

Ulteriori differenze sono state riscontrate in termini di purezza degli estratti (fig. 1): i nostri risultati, in particolare, hanno evidenziato maggiori impurità a carico di CR (corsia 1) e PI (corsia 2) rispetto a BO (corsia 3) e MO (corsia 4). La spiegazione, ancora una volta, sta nella diversità della trasmissione del calore durante la cottura: la convezione (bollitura) e l'irraggiamento (microonde), più che la conduzione (cottura alla piastra), sembrerebbero favorire la corsa elettroforetica del DNA liberandolo dalle impurità presenti negli estratti (proteine, in primo luogo). Tale risultato è stato confermato anche dal rapporto delle letture a 260 e 280 nm (A_{260}/A_{280}), dal momento che, anche in questo caso, sono emerse differenze altamente significative tra i diversi metodi di cottura utilizzati ($P < 0,001$). La cottura a microonde, in particolare, ha fornito estratti in cui la contaminazione proteica era di gran lunga più bassa rispetto agli altri metodi di cottura (tab. 2): il valore, infatti, è stato di 1,86, quasi il 3% in più rispetto al controllo (CR = 1,81). Tale differenza sarebbe da ascrivere sia all'effetto ipercromico (e, quindi, ad un maggior assorbimento della luce a 260 nm) che alla maggiore denaturazione proteica, con un conseguente minor assorbimento a 280 nm. È da sottolineare, comunque, che il valore del rapporto delle letture spettrofotometriche del controllo è risultato superiore a quello rinvenuto da Zhang *et al.* (2007) partendo da carne fresca tritata (1,73), a ulteriore conferma della validità delle modifiche apportate al protocollo di estrazione.

Amplificazione del DNA

La figura 2 mostra i risultati relativi all'amplificazione del frammento lungo 116 bp interno al gene *cyt b*. L'esito positivo riscontrato nei nostri campioni attraverso la PCR replica quello di altri autori (Zhang *et al.*, 2007), i quali, tra l'altro, hanno dimostrato la specificità del tratto amplificato per la specie bovina utilizzando la stessa coppia di *primer* in altre specie senza ottenere alcun risultato utile. Gli stessi autori, inoltre, riportano risultati positivi anche a partire da DNA estratto da latte e formaggi vaccini.

Sorprende, tuttavia, il fatto che, nonostante i metodi di cottura abbiano prodotto risultati contrastanti relativamente ai parametri molecolari sopra descritti, la reazione di PCR sia sempre avvenuta con successo a partire da 0,1 µg di DNA di ciascun campione (tab. 2). Evidentemente, la trasmissione del calore deve aver ridotto la dimensione originaria (1140 bp) della sequenza specifica del gene *cyt b*, dando origine a frammenti di DNA che, pur differendo in funzione del metodo di cottura utilizzato, avevano una lunghezza tale da poter essere comunque amplificati e, quindi, superiore a 116 bp. Guoli *et al.* (1999), ad esempio, hanno osservato che, trattando dei campioni di carne a temperature diverse (+100°C e +120°C) per 30 minuti, la dimensione della sequenza si riduceva, passando da 1100 a 300 bp; tale *size* è risultato comunque adatto per la PCR. I ricercatori, in particolare, hanno disegnato una coppia di *primer* su una sequenza nota di DNA satellite della specie bovina (Skowronski *et al.*, 1984), ottenendo un prodotto amplificato a 218 bp partendo sempre da 0,1 µg di DNA.

Anche Matsunaga *et al.* (1999) hanno amplificato frammenti del gene *cyt b* a partire da carne cotta con le stesse modalità. Disegnando il *primer forward* su una regione conservata del gene e il *primer reverse* su sequenze specie-specifiche dello stesso gene, i ricercatori sono riusciti ad amplificare – sia singolarmente che simultaneamente (multiplex PCR) da preparati di carne dalla diversa composizione – frammenti di DNA di più specie (bovina, suina, avicola, ovina, caprina, equina) ad altezze diverse (da 157 a 439 bp), eccezion fatta per l’estratto ottenuto da carne equina cotta a +120°C per 30 minuti. La spiegazione stava proprio nella mancata integrità del frammento del gene d’interesse, che, nello specifico, era inferiore a 439 bp. Più complesso è stato lo studio di Arslan *et al.* (2006), i quali riportano risultati negativi in termini di amplificazione di sequenze di mtDNA da estratti ottenuti a seguito di frittura della carne: dopo 45 minuti di esposizione, la temperatura interna della carne era di +115°C, mentre quella del grasso di +173°C, valori che, evidentemente, hanno irrimediabilmente compromesso l’amplificabilità del tratto d’interesse (271 bp). Tutte positive, invece, le reazioni ottenute da DNA estratto da carne cotta secondo altre modalità: bollitura (a +97,5°C per 140, 200 e 230 minuti), al forno (a +200°C per 80, 120 e 150 minuti) e in autoclave (a +120°C per 30, 60 e 90 minuti).

Conclusioni

I risultati ottenuti nel presente studio hanno dimostrato che le differenti modalità con cui il calore si propaga durante la cottura della carne sono in grado di differenziare la qualità, la resa e la purezza del DNA estratto. Ad eccezione della bollitura (BO), tutte le tecniche di cottura utilizzate hanno permesso di ottenere una resa di DNA più elevata rispetto alla carne cruda (CR). La cottura a microonde (MO) ha prodotto una maggiore degradazione del DNA; l’evidente effetto ipercromico che ne è derivato ha, a sua volta, determinato una maggiore disponibilità di molecole di DNA di basso peso molecolare. Sarebbe opportuno verificare tali risultati anche in altri muscoli, in modo da evidenziare eventuali differenze in funzione del tipo di muscolo e della sua funzione, oltre che delle caratteristiche chimiche, fisiche e sensoriali.

L’amplificazione tramite PCR ha sempre consentito di poter risalire all’origine della specie da cui era stata ottenuta la carne. La scelta di amplificare un tratto specie-specifico del gene *cyt b* di 116 bp ha, quindi, permesso di “azzerare” le differenze prodotte dalle tecniche di cottura sul DNA estratto.

L’alta sensibilità del risultato conferma ulteriormente la validità della tecnica utilizzata nei casi di vendita di *aliud pro alio* e, quindi, nel difficile compito di infondere sicurezza nel consumatore alla luce degli ultimi scandali alimentari (mozzarella, vino, olio, surgelati, caviale, formaggio, ecc.).

Bibliografia

- AMSA (1978). *Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat*. Chicago: American Meat Science Association, National Livestock and Meat Board.
- Arslan, A., Ilhak, O. I., Calicioglu, M. (2006). Effect of method of cooking on identification of heat processed beef using polymerase chain reaction (PCR) technique. *Meat Science*, 72, 326–330.
- Bottero, M. T., Dalmaso, I. A., Nucera, D., Turi, R. M., Rosati, S., Squadrone, S., et al. (2003). Development of a PCR assay for the detection of animal tissues in ruminant feeds. *Journal of Food Protection*, 66, 2307–2312.
- Chikuni, K., Tabata, T., Kosugiyama, M., Monma, M., Saito, M. (1994a). Polymerase chain reaction assay for detection of sheep and goat meats. *Meat Science*, 37, 337–345.
- Chikuni, K., Tabata, T., Saito, M., Monma, M. (1994b). Sequencing of mitochondrial cytochrome b genes for the identification of meat species. *Animal Science and Technology (Jpn)*, 65, 571–579.
- Dooley, J. J., Paine, K. E., Garrett, S. D., & Brown, H. M. (2004). Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat Science*, 68, 431–438.
- Giovannacci, I., Guizard, C., Carlier, M., Duval, V., Martin, J. L., Demeulemester, C. (2004). Species identification of meat products by ELISA. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 863–867.
- Guoli, Z., Mingguang, Z., Zhijiang, Z., Hongsheng, O., Qiang, L. (1999). Establishment and application of a polymerase chain reaction for the identification of beef. *Meat Science*, 51, 233–236.
- Hamm, R. (1977). In T. Hoyem & O. Kvalve (Eds.), *Physical, chemical and biological change in food caused by thermal processing* (pp. 101). London: Applied Science Publisher.
- Matsunaga, T., Chikuni, K., Tanabe, R., Muroya, S., Shibata, K., Yamada, J., et al. (1999). A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science*, 51, 143–148.
- Offer, G. (1984). *Progress in the biochemistry physiology and structure of meat*. In R. Lawrie (Ed.), *Proceedings of the 30th European meeting of meat science* (4th ed.) (pp. 173–241). Oxford: Elsevier.
- Robin, E. D., Wong, R. (1988). Mitochondrial DNA molecules and virtual numbers of mitochondria per cell in mammalian cells. *J. Cell. Physiol.*, 136, 507–513.
- Rodriguez, M. A., García, T., González, I., Asensio, L., Hernández, P. E., Martín, R. (2004). PCR identification of beef, sheep, goat and pork in raw and heat-treated meat mixtures. *J. Food Prot.*, 67, 172–177.

- Rowe, R. W. D. (1989). Electron microscopy of bovine muscles: II – The effects of heat denaturation on post rigor sarcolemma and endomysium. *Meat Science*, 26, 281–294.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Skowronski, J., Plucienniczak, A., Bednarek, A. (1984). Bovine 1.709 satellite: recombination hotspots and dispersed repeated sequences. *J. Mol. Biol.*, 177, 399-416.
- Tartaglia, M., Saulle, E., Pestalozza, S., Morelli, L, Antonucci, G., Battaglia, P. A. (1998). Detection of bovine mitochondrial DNA in ruminant feeds: a molecular approach to test for the presence of bovine-derived materials. *J. Food Prot.* 61, 513–518.
- Toorop, R. M., Murch, S. J., Ball, R. O. (1997). Methodology and development of prediction equations for the determination of pork substitution in veal. *Food Research International*, 30, 629–636.
- Unseld, M., Beyermann, B., Brandt, P., Hiesel, R. (1995). Identification of the species origin of highly processed meat products by mitochondrial DNA sequences. *PCR Methods Appl.*, 4, 241–243.
- Vallejo, B., González, A. F., Mazonra, M. A., Rodríguez, R. (2005). Capillary electrophoresis for the analysis of meat authenticity. *Journal of Separation Science*, 28, 826–836.
- Wang, R. F., Myers, M. J., Campbell, W., Cao, W. W., Paine, D., Cerniglia, C. E. (2000). A rapid method for PCR detection of bovine materials in animal feedstuffs. *Mol. Cell. Probes*, 14, 1–5.
- Zhang, C. -L., Fowler, M. R., Scott, N. W., Lawson, G., Slater, A. (2007) A TaqMan real-time PCR system for the identification and quantification of bovine DNA in meats, milks and cheeses. *Food Control*, 18, 1149–1158.

Tabella 1 – Caratteristiche dei trattamenti termici utilizzati.

Sigla	Trattamento termico	Caratteristiche della cottura	Esposizione
CR	Controllo	La carne non è stata cotta ma conservata a +4°C	5 minuti
PI	Conduzione	La carne è stata posta su una piastra preriscaldata e cotta fino al raggiungimento di una temperatura interna di +70°C (AMSA, 1978)	5 minuti
BO	Convezione	La carne è stata immersa in acqua già bollente (+100°C)	5 minuti
MO	Irraggiamento	La carne è stata adagiata in una terrina di porcellana e cotta al microonde ad una potenza di 560W	5 minuti

Tabella 2 – Effetto dei trattamenti termici sui parametri molecolari del DNA estratto.

Trattamento termico	Resa di DNA estratto* (µg/g di tessuto)	Purezza della soluzione* (A_{260}/A_{280})	Amplificabilità
Controllo (CR)	490,30 ± 12,66 a	1,82 ± 0,01 a	100%
Conduzione (PI)	882,80 ± 12,66 b	1,81 ± 0,01 b	100%
Convezione (BO)	284,57 ± 12,66 c	1,83 ± 0,01 c	100%
Irraggiamento (MO)	1071,46 ± 12,66 d	1,86 ± 0,01 d	100%

* = le medie (± d.s.) contrassegnate da lettere uguali non differiscono significativamente ($P < 0,05$).

Figura 1 – Effetto dei trattamenti termici sulla qualità del DNA estratto (gel d'agarosio all'1%).

Le corsie 1÷4 mostrano il DNA genomico ottenuto tramite i seguenti trattamenti termici:
1 = Controllo (CR); 2 = Conduzione (PI); 3 = Convezione (BO); 4 = Irraggiamento (MO).
M = Marcatore di peso molecolare noto (150 ng).

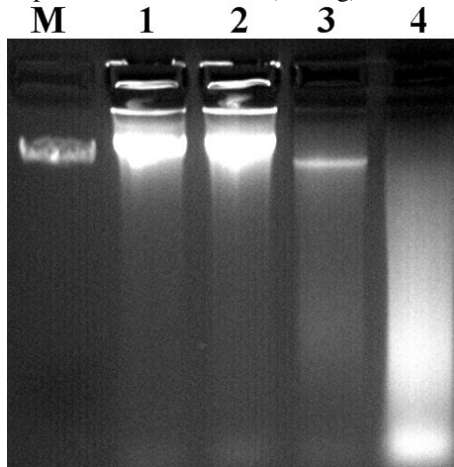
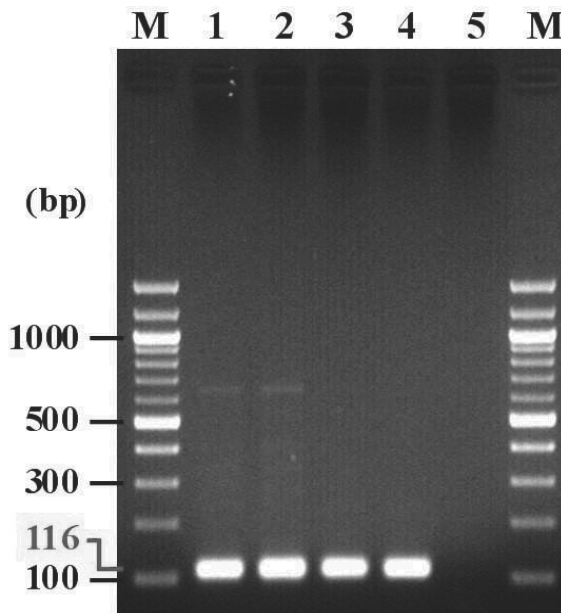


Figura 2 – Effetto dei trattamenti termici sull'amplificazione del DNA estratto (gel d'agarosio all'1,5%).

Le corsie 1÷4 mostrano i prodotti di PCR a partire da DNA ottenuto tramite i seguenti trattamenti termici:

1 = Controllo (CR); 2 = Conduzione (PI); 3 = Convezione (BO); 4 = Irraggiamento (MO).
M = 100 bp DNA Ladder; 5 = Bianco di reazione.



INDICE

PRESENTAZIONE

Indagine demografica in un allevamento di bovini di razza Podolica

(Lasagna E. Landi V. Frumenzio V., Iaffaldano N., Sarti F. M.) Pag. 5

Aspetti quanti-qualitativi della carne di vitelloni podolici puri ed F1 alimentati con razioni contenenti buccetta d'uva

(Marsico G., Rasulo A., Forcelli M.G., Tarricone S., Pinto F., Cagnetta P., Basile G.) » 15

L'Uro (*Bos Primigenius*, Bojanus 1827), progenitore dei bovini domestici

(Ciani F., Matassino D.) » 33

Comportamento alimentare di vitelloni podolici al pascolo

(Braghieri A., Sabia E., Pacelli C., Piazzolla N., Girolami A., Napolitano F.) » 45

Pseudomiopia congenita in bovini di razza Chianina

(Testoni S., Boni P., Filippini F., Gentile A.) » 57

Indagine su endoparassiti in bovini di razza Chianina allevati nell'Italia centrale

(Mani D., Magi M., Macchioni F., Prati M.C., Dell'Omodarme M., Ferruzzi G.) » 65

La valutazione dell'efficienza produttiva in allevamenti bovini di razza Chianina: il caso dell'Alto Tevere umbro

(Pauselli M., Cucchiari E., Petrini A., Morbidini L.) » 71

Gli SNPs (polimorfismi di singoli nucleotidi) come indici di alcuni parametri produttivi nelle razze Chianina e Marchigiana (Lasagna E., Landi V., Filippini F., Sarti F. M., Panella F.)	Pag.	81
Influenza di alcuni fattori post mortem sulle caratteristiche colorimetriche della carne di vitelloni marchigiani (Zullo A., Pucillo G., Barone C.M.A.)	»	91
La tutela e la valorizzazione della razza bovina Maremmana mediante la tracciabilità molecolare individuale della produzione della carne (Ciampolini R., Lenzi E., Tancredi M., Mazzanti E., Ciani E., Bramante A., Cecchi F.)	»	105
Amplificazione di sequenze di DNA mitocondriale bovino da carne sottoposta a trattamenti termici (Musto M., Satriano M. L.)	»	117

Finito di stampare nel mese di Dicembre 2007
dalla Tipolitografia Grifo - Perugia