

J.E.G.

IMMEDIATA ESECUTIVITA

La presente deliberazione viene affissa il 21 GEN. 2003
15 giorni

all'Albo Pretorio per rimanervi

PROVINCIA di BENEVENTO

Ca/inc.esu/condabi prog.ric.

Deliberazione della Giunta Provinciale di Benevento n. 12 del 20 GEN. 2003

OGGETTO : APPROVAZIONE PROGETTO DI RICERCA NEL SETTORE DELLA PROTEOMICA E DELLA TIPIZZAZIONE GENETICA CON L'IMPIEGO DELLA TECNICA MICROARRAY.

L'anno duemilatre il giorno VENTI del mese di GENNAIO presso la Rocca dei Rettori si è riunita la Giunta Provinciale con l'intervento dei Signori:

- | | | |
|-------------------------------|-------------------|----------------|
| 1) On.le Carmine NARDONE | - Presidente | _____ |
| 2) Dott. Rosario SPATAFORA | - Vice Presidente | _____ |
| 3) | - Assessore | _____ |
| 4) | - Assessore | _____ |
| 5) Dott. Giuseppe LAMPARELLI | - Assessore | _____ |
| 6) Dott. Raffaele DI LONARDO | - Assessore | _____ |
| 7) Sig. Claudio Mosè PRINCIPE | - Assessore | <u>ASSENTE</u> |
| 8) Dr. Giorgio C. NISTA | - Assessore | _____ |
| 9) Rag. Nunzio S. ANTONINO | - Assessore | <u>ASSENTE</u> |

Con la partecipazione del Segretario Generale Dott. Gianclaudio IANNELLA

L'ASSESSORE PROPONENTE 

LA GIUNTA

Premesso che :

- la Provincia di Benevento, ritenendo utile recepire quanto sta maturando in sede europea e nazionale, ha programmato la realizzazione di un 'Polo multifunzionale di eccellenza tecnologica per biodiversità, biotecnologie e qualità alimentare', la cui fattibilità è stata già dimostrata, con uno studio dell'Università degli Studi del Sannio, cofinanziato dal C.I.P.E. (delibera n. 106 del 30/06/99) e approvato dalla Provincia (delibera G.P. n. 310 del 30/07/01). Il suddetto Polo, nel prevedere la costituzione di un Centro di Eccellenza per la Qualità Alimentare (CEQUAL), è informato sui seguenti principi:
 - (a) nuova definizione della qualità degli alimenti e degli effetti sulla salute umana;
 - (b) sicurezza alimentare e attuazione del 'principio di precauzione' per quanto attiene agli OGM;

- (c) identificazione di nuove qualità alimentari con particolare attenzione a quelle rivolte alla prevenzione delle malattie degenerative.
- il ConSDABI NFP.I-FAO, consorzio senza scopi di lucro, fondato nel 1992, al fine di perseguire, nell'ambito di un piano nazionale di coordinamento e d'indirizzo per la salvaguardia delle risorse genetiche animali d'interesse zootecnico, minacciate di estinzione, i seguenti obiettivi:
 - (a) conservazione di razze o tipi genetici minacciati di estinzione;
 - (b) approfondimento dello studio delle loro caratteristiche biologiche e di quelle legate alla qualità delle produzioni;
 - (c) studio e potenziamento delle attività di registrazione per tutte le razze e popolazioni oggetto di conservazione;
 - (d) studio dei modelli di valorizzazione naturale ed ecologica di aree di allevamento altrimenti destinate all'abbandono,
 è stato accreditato nel 1994 dal Governo Italiano quale 'National Focal Point' nell'ambito del Programma Globale della FAO per la gestione delle Risorse genetiche Animali, per cui si attua, attraverso la sede principale e le sedi secondarie, collocate su tutto il territorio nazionale, piani per la tutela dei tipi genetici autoctoni.
- la Provincia di Benevento, in conformità al progetto approvato, ha finanziato, con un accordo istituzionale di programma sottoscritto con la Regione Campania, la ristrutturazione e l'adeguamento di alcuni locali siti presso l'Istituto Professionale per l'Agricoltura 'M. Vetrone' di Benevento, al fine di renderli funzionali alla realizzazione del centro di ricerca sulle risorse genetiche animali d'interesse zootecnico.
- il ConSDABI NFP.I-FAO, per la sua attività e i suoi scopi, è un organismo in possesso dei requisiti scientifici per l'attuazione del CEQUAL, anche per le collaborazioni in corso con la Provincia e con l'Università del Sannio.

Considerato che :

- la Provincia di Benevento ha formulato alla Regione Campania - Assessorato Università e Ricerca Scientifica, con nota del 24.10.2002, prot. gen. n. 31774, richiesta di istituzione di un centro di competenza per la sicurezza alimentare e di finanziamento delle relative apparecchiature (proteomica e microarray) allegata in copia (Allegato "A"), in fase di istruttoria da parte della Regione Campania;

Tenuto conto che il ConSDABI NFP.I-FAO ha predisposto l'allegato progetto di ricerca (Allegato "B") nel settore della proteomica e della tipizzazione genetica con l'impiego della tecnica microarray, di cui ne curerà le attività sostenendone i relativi costi, utilizzando anche le apparecchiature oggetto della richiesta di finanziamento di cui al punto precedente;

Ritenuto doversi procedere all'approvazione dell'allegato progetto;

Per tutte le motivazioni sovraesposte si propone di approvare l'allegato progetto di ricerca (Allegato "B") nel settore della proteomica e della tipizzazione genetica con l'impiego della tecnica microarray redatto dal ConSDABI NFP.I-FAO

Ritenuto doversi procedere all'approvazione della presente proposta;

Esprime parere favorevole circa la regolarità tecnica della proposta.

li _____

Il Dirigente S.E.P.
(dott. ing. Valentino Melillo)



Esprime parere favorevole circa la regolarità contabile della proposta,

Li _____

Il Dirigente del Settore FINANZE
E CONTROLLO ECONOMICO
(dott. Sergio Muollo)

LA GIUNTA

Su relazione dell'Assessore al ramo **DI LONARDO**
A voti unanimi

DELIBERA

La premessa è parte integrante e sostanziale del presente dispositivo:

- di approvare il progetto di ricerca nel settore della proteomica e della tipizzazione genetica con l'impiego della tecnica microarray, redatto dal ConSDABI NFP.I-FAO, che si allega al presente atto sotto la lettera "B" per formarne parte integrante e sostanziale;
- di autorizzare il Presidente ed il Dirigente del Settore per tutti i conseguenziali adempimenti;
- di dichiarare il presente atto immediatamente esecutivo.

Verbale letto, confermato e sottoscritto
IL SEGRETARIO GENERALE
(Dr. Gianclaudio IANNELLA)

IL PRESIDENTE
(dr. Carmine NARDONE)

N. 55 **Registro Pubblicazione**

Si certifica che la presente deliberazione è stata affissa all'Albo in data odierna, per rimanervi per 15 giorni consecutivi a norma dell'art. 124 del T.U. - D. Lgs. 18.8.2000, n.267

21 GEN. 2003

BENEVENTO

IL MESSO

IL SEGRETARIO GENERALE
IL SEGRETARIO GENERALE
(Dott. Gianclaudio IANNELLA)

21 GEN. 2003

La suestesa deliberazione è stata affissa all'Albo Pretorio in data _____ e contestualmente comunicata ai Capigruppo ai sensi dell'art. 125 del T.U. - D. Lgs.vo 18/8/2000, n. 267..

SI ATTESTA, che la presente deliberazione è divenuta esecutiva a norma n. 124 del T.U. - D. Lgs. 18.8.2000, n.267 e avverso la stessa non sono stati sollevati rilievi nei termini di legge.

- 7 FEB. 2003

li _____

IL RESPONSABILE DELL'UFFICIO

IL SEGRETARIO GENERALE
IL SEGRETARIO GENERALE
(Dott. Gianclaudio IANNELLA)

Si certifica che la presente deliberazione è divenuta esecutiva ai sensi del T.U. - D. Lgs. 18.8.2000, n.267 il giorno **7 FEB. 2003**.

- Dichiarata immediatamente eseguibile(art. 134,comma 4,D.Lgs.vo 18/8/2000, n. 267)
- Decorsi 10 giorni dalla sua pubblicazione(art. 134,comma 3,D.Lgs.vo 18/8/2000, n. 267)
- E' stata revocata con atto n. _____ del _____.

BENEVENTO, li **7 FEB. 2003**

IL SEGRETARIO GENERALE
IL SEGRETARIO GENERALE

Copia per
SETTORE S.E.P.

SETTORE _____

SETTORE _____

Revisori dei Conti

Nucleo di Valutazione

il _____ prot. n. _____
il 23/1/03 prot. n. _____
il _____ prot. n. 738
il _____ prot. n. _____
il _____ prot. n. _____

B. Ventura } 1398
10-2-03



PROVINCIA DI BENEVENTO

PRESIDENZA

Prot. n. 31774 del 24 OTT. 2000

Prof. Luigi Nicolais
Assessore Università
E Ricerca Scientifica
Regione Campania
Via S. Lucia, 81

NAPOLI

OGGETTO: Centro di competenza.

Premesso

- che dal 1992 in provincia di Benevento, svolge la sua attività di ricerca il CONSDABI, consorzio, senza scopi di lucro, fondato dal Comune di Circello, dall'Associazione Italiana Allevatori e dalla C.C.I.A.A. di Benevento, finalizzato al perseguimento, nell'ambito di un piano nazionale di coordinamento e d'indirizzo per la salvaguardia delle risorse genetiche animali d'interesse zootecnico minacciate di estinzione, dei seguenti obiettivi:
 1. conservazione di razze o tipi genetici minacciati di estinzione;
 2. approfondimento dello studio delle loro caratteristiche biologiche e di quelle legate alla qualità delle produzioni;
 3. studio e potenziamento delle attività di registrazione per tutte le razze e popolazioni oggetto di conservazione;
 4. studio di modelli di valorizzazione naturale ed ecologica di aree di allevamento altrimenti destinate all'abbandono;
- che l'importante attività di ricerca, svolta dal CONSDABI in campo nazionale e internazionale, ha avuto riconoscimenti tali da essere accreditato nel 1994 dal Governo Italiano quale "National focal point" nell'ambito del Programma Globale della FAO per la gestione delle Risorse Genetiche Animali, per cui attua, attraverso la sede principale e le sedi secondarie, collocate su tutto il territorio nazionale, piani per la tutela dei tipi genetici autoctoni;
- che questa Provincia ha predisposto una apposita convenzione con il CONSDABI finalizzata ad un rafforzamento dell'attività di ricerca, in particolare nel campo della qualità e sicurezza alimentare, nell'ambito del programma teso a realizzare un Centro di Eccellenza per Biodiversità, Biotecnologie e Qualità alimentare;



ConSDABI

CONSORZIO PER LA SPERIMENTAZIONE, DIVULGAZIONE E APPLICAZIONE DI BIOTECNICHE INNOVATIVE

Promosso da: *Associazione Italiana Allevatori, Comune di Circello e CCIAA di Benevento*
Soci: *Associazione Italiana Allevatori, Comune di Circello, CCIAA di Benevento e Associazione Nazionale Allevatori Frisone Italiana*

CeSGAVE

Centro di Salvaguardia di Germoplasma Animale in Via di Estinzione
Promosso da: *Ministero per le politiche Agricole, Associazione Italiana Allevatori e Comune di Circello*

CeFAPE

Centro di Fecondazione Artificiale e Produzione Embrioni
Promosso da: *Regione Campania e Comune di Circello*

National Focal Point Italiano FAO
Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources

Programma di ricerca su:

Individuazione di specificità di prodotti con funzione ‘nutrizionale’ ed ‘extranutrizionale’ del Sannio Beneventano

1. Introduzione

All'era del post-genoma hanno fatto seguito quelle del *proteoma* e della *metabolomica*. Entrambe mirano a dare un *senso funzionale* alle informazioni contenute nel genoma: la prima attraverso l'identificazione di proteine di cui si conoscono il gene codificante e la funzione, la seconda attraverso l'identificazione di tutti i *network metabolici operativi*; ciò al fine di raggiungere dinamici livelli di benessere fisico, psichico e sociale dell'uomo.

La notevole potenza di risoluzione della *proteomica* permette un suo ampio impiego nei vari settori produttivi agroalimentari e nel settore della medicina umana e animale, al fine di individuare tutta una serie di ‘*biomolecole*’ quali-quantitativamente specifiche di alimenti prodotti in determinati territori, come quello Sannita.

P.IVA e C.F.: **00939200622** – Anagrafe Nazionale Ricerche n. **80780YVF** – Reg. Trib. BN n. **2608/5458** – CCIAA n. **72300**

*Il futuro del passato è nel futuro,
il futuro del presente è nel passato e
il futuro del futuro è nel presente.*
J. Mchtalle

Azienda CASALDIANNI - 82020 CIRCELLO (BN) – ITALIA
Tel. ++39 824938211 - Fax ++39 824938213
Sito Internet: www.consdabi.org
E-mail: consdabi@consdabi.org

I territori, sia nel caso dei prodotti di *origine animale* che per quelli di *origine vegetale*, in virtù delle *proprie diversità*, possono contribuire alla *'diversificazione nutrizionale ed extranutrizionale'* degli alimenti; pertanto, i territori, pur nell'ambito della globalizzazione in corso, debbono competere per la diversificazione dell'offerta e per la formulazione di *'nuove qualità'*, attuate secondo procedure rigorose di valutazione, in grado di fornire più sicurezza e più benessere all'uomo.

2. Alimenti funzionali

Nel consumatore, attualmente, è sempre più diffusa la convinzione che l'alimento, oltre a soddisfare le esigenze edonistiche e nutrizionali, debba rispondere a determinati requisiti di sicurezza e contenere *proprietà extranutrizionali* in grado di svolgere un'attività preventiva nei confronti di malattie degenerative e croniche assicurando una migliore qualità e una maggiore durata della vita. Pertanto, la scienza della nutrizione si sta spostando sempre di più dal concetto di nutrizione *'adeguata'* a quello di nutrizione *'ottimale'* e trovano sempre maggiore consenso i cosiddetti *'alimenti funzionali'* (*functional foods*).

Nei primi anni '80 in Giappone viene indicata con il termine FOSHU (*Food for Specific Health Use*) una categoria di alimenti che hanno un *'effetto sulla salute dell'uomo come risultato della loro composizione specifica o in quanto privati degli allergeni'*. Successivamente viene proposta una grande varietà di termini, più o meno correlati al significato dato dai giapponesi, come *pharmafoods, vitafoods, dietary supplements, fortified foods, functional foods*. Attualmente, per alimenti funzionali si intendono quegli alimenti che contengono un componente, che sia o meno un nutriente, con effetti positivi (benessere) su una o più specifiche funzioni dell'organismo umano. Gli *alimenti funzionali*, così definiti dal francese Jean Rostand, non vanno identificati o

confusi con gli *alimenti dietetici* in quanto questi ultimi, legalmente definiti, sono rivolti a persone in condizioni fisiche particolari (carenze o malattie), mentre i primi sono rivolti a chiunque consideri l'alimentazione come uno dei modi per assicurare una migliore qualità della vita.

Perché il consumatore sia informato circa gli effetti positivi degli *alimenti funzionali*, è necessario prevedere per ciascuno di essi una *etichetta* che ne dichiari le proprietà (quello che in anglosassone è definito *claim*).

Attraverso la proteomica è possibile individuare e caratterizzare marcatori molecolari da utilizzare come parametri di qualità, di salubrità, nonché di tipicità degli alimenti. Infatti, è possibile ottenere delle vere e proprie impronte di mappe bidimensionali polipeptidiche dei prodotti '*tradizionali tipizzati*' che vengono registrate come immagini in banche dati; tali immagini (*fingerprinting*) possono essere utilizzate, nelle analisi di tracciabilità, come termini di confronto per la verifica della presenza di alcuni parametri di tipicità e di salubrità nel prodotto in esame. Le eventuali discordanze tra la mappa del prodotto in esame e quella presente in banca dati possono essere indicatrici di: imitazione; differente diagramma di lavorazione; provenienza da un tipo genetico (nel caso di alimenti di origine animale) o da una *cultivar* (nel caso di alimenti di origine vegetale) differente da quello/a previsto/a per un determinato prodotto '*tradizionale*'; provenienza da un'area geografica diversa da quella prevista dal disciplinare DOP; anomalie nei processi proteolici dovute a eventuali patogeni e/o inquinanti; ecc..

In tal modo la proteomica costituisce un valido strumento per la '*rintracciabilità di filiera*', quest'ultima intesa (Regolamento CE n. 178/2002 sulla 'Sicurezza alimentare') come '*la possibilità di ricostruire e seguire il percorso di un alimento, di un mangime, di un animale destinato alla produzione alimentare o di una sostanza destinata o atta a entrare a far parte di un alimento o di un mangime attraverso tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione*'.

Pertanto, la proteomica può fornire un notevole contributo al settore agro-

-alimentare per l'ottimizzazione dei diagrammi di flusso, per la tutela dell'unicità del prodotto e per la garanzia della salubrità dello stesso.

3. Sicurezza alimentare

Il germoplasma autoctono, oltre a costituire un patrimonio dallo straordinario valore culturale di documentazione storica e biologica, va sempre di più considerato per il suo ruolo insostituibile nel fornire derrate alimentari di qualità, in grado di soddisfare le diversificate esigenze alimentari dell'uomo.

Il concetto di qualità non interessa solo l'alimento, ma deve coinvolgere tutta la sua storia, che inizia con l'individualità dell'animale o del vegetale che fornisce quell'alimento per l'uomo e che viene allevato o coltivato in un determinato microambiente. Da ciò scaturisce la necessità della *tipizzazione individuale* al fine di ottenere informazioni che costituiscono il punto di partenza per raggiungere il traguardo di una nuova visione del rapporto 'uomo - natura' inteso nella sua accezione più ampia.

Qualsiasi prodotto deve essere disciplinato in base a norme ben precise, che tengano conto di tutte le componenti: produttore, distributore e consumatore. Ovviamente, per poter ottenere prodotti che presentino i requisiti di qualità richiesti dal consumatore, è indispensabile che si instauri un sinergismo d'azione fra tutti gli operatori della filiera produttiva (allevamento, trasformazione e distribuzione), in modo da giungere alla cosiddetta '*qualità totale*'.

La qualità dei prodotti è, infatti, come la maggior parte dei fenomeni biologici, influenzata da numerosi fattori. L'unica tecnica attualmente capace di giungere con successo alla identificazione e allo studio simultaneo della funzione dei migliaia di geni che controllano la qualità dei prodotti di origine animale o vegetale è il DNA *microarray*. Tale metodica è importante in quanto consente l'analisi di espressione di molti geni in maniera simultanea. Questo metodo è conveniente soprattutto per l'analisi di quei geni la cui espressione è diversa in due campioni.

Grazie al DNA *microarray* si possono rilevare (identificare) per esempio: i trascritti per gli enzimi glicolitici e/o ossidativi del muscolo, coinvolti nella qualità della carne; studiare l'aumento o la diminuzione dell'mRNA per la miostatina; conoscere l'età biologica di un tessuto; valutare, a livello molecolare, l'efficacia di un eventuale intervento per ritardare i processi di invecchiamento.

Il DNA *microarray* può essere utilizzato per conoscere in quale tessuto viene espresso il gene, nonché avere *informazioni sulle relazioni che intercorrono tra l'espressione di diversi geni.*

Un'applicazione attuale della *proteomica*, già utilizzata con successo in medicina per cercare marcatori molecolari in cellule tumorali al fine di individuare i geni correlati a questa malattia, è il riconoscimento e l'esatta descrizione del prodotto genico del gene modificato. In questo caso, mediante analisi dell'immagine, si possono individuare tutte le variazioni quali-quantitative subite dalle proteine correlate al gene modificato. Nel caso di nuova espressione o di scomparsa di una proteina, questa può essere caratterizzata, nonché si può individuare l'esatta mutazione avvenuta. Ciò permetterebbe, tra l'altro, di poter stimare *'in vitro'*, una eventuale tossicità per l'uomo della/e nuova/e forma/e proteica/che.

Attraverso l'uso estensivo delle tecniche più avanzate della spettrometria di massa è possibile identificare, con accuratezza massima, le proteine 'nuove' (non esistenti in banca dati) sulla base della esatta massa molecolare della proteina stessa e della frammentazione, fino al singolo aminoacido, per la determinazione della struttura primaria (composizione quali-quantitativa amminoacidica). Questa 'frammentazione' è foriera di ulteriore conoscenza di *'biomolecole'* funzionali al benessere dell'uomo, nonché di valido ausilio (probatorio) nei casi di presenza 'dubbia' di componenti 'estranee' alla sequenza naturale.

4. Conclusioni

In conclusione, la proteomica e il DNA *microarray*, nell'ambito del Centro di competenza, con l'individuazione e con la caratterizzazione di marcatori molecolari, sono strumenti indispensabili per:

- (a) la *'rintracciabilità di filiera'* e quindi per la tutela dell'*'unicità'* e della *'salubrità'* dei prodotti agro-alimentari
- (b) la prevenzione di malattie degenerative con particolare riferimento al cancro
- (c) la valorizzazione sia dei prodotti *'tradizionali'* che del territorio interessato, quindi per uno sviluppo *'multifunzionale sostenibile'* della ruralità.

5. Richiesta finanziamento

Quale tappa fondamentale per la valorizzazione di un tipo genetico (TG) e per il rafforzamento, nonché per il miglioramento del sistema produttivo, di trasformazione e di commercializzazione del prodotto carne, latte e/o derivati, per giungere esempio alla definizione di un DOP *'agnello Laticauda'* così come del *'pecorino di Laticauda sannita'*, del *caciocavallo* di Marchigiana o dei prodotti *'tradizionali tipizzati'* di Casertana: *'salsiccia del Sannio'*, *'salame Napoli'*, *'soppressata del Sannio'*, *'capocollo del Sannio'*, *'fiocco del Sannio'*, *'prosciutto stagionato del Sannio'*, *'lardo del Sannio'*, *'pancetta del Sannio'* (distesa e arrotolata), (nonché *'prosciutto di Pietraroia'*), saranno effettuate:

N. analisi	Tipo analisi	Costo unitario, Euro	Costo totale, Euro
150	DNA microarray	1.680,00	252.000,00
400	Proteomica	275,00	110.000,00
			353.000,00
		10% Spese generali	35.300,00
		Totale generale	388.300,00

PROGRAMMA DI RICERCA

VALORIZZAZIONE DEL TIPO GENETICO (TG) OVINO '*LATICAUDA*'

1. PREMESSA

In questi ultimi anni, la necessità di porre un freno alla scomparsa di numerose razze animali è, ormai, unanimemente riconosciuta.

La salvaguardia della biodiversità, soprattutto nei Paesi Sviluppati, alla luce di una mutata politica agricola mondiale, di una visione sistemica del processo produttivo agrozootecnico, di una maggiore sensibilità ambientale dell'opinione pubblica, nonché di una crescente consapevolezza del fondamentale ruolo dei tipi genetici autoctoni (TGA) nel contesto di uno sviluppo ' *rurale multifunzionale sostenibile*', diventa un obiettivo globale, soprattutto perché pone le basi per un auspicabile mantenimento della varietà degli alimenti, indispensabile, a sua volta, nell'assicurare all'uomo una migliore qualità e una maggiore durata della vita, quindi un livello ottimale del benessere fisico, psichico e sociale dell'uomo stesso.

Le continue acquisizioni di conoscenza delle caratteristiche *chimico-biologiche* degli alimenti prodotti dai diversi esseri viventi '*gestiti*' dall'uomo evidenziano in modo inconfutabile la immensa '*ricchezza di diversità*' nella composizione degli alimenti provenienti dal '*regno animale*' e dal '*regno vegetale*', in virtù delle *differenze biologiche* tra i gruppi tassonomici e, entro il gruppo tassonomico, tra i singoli individui.

Pertanto, la biodiversità è la *conditio sine qua non* per la produzione di alimenti caratterizzati da proprie '*specificità nutrizionali*'.

I TGA, impiegati con successo per la produzione di derrate alimentari '*tradizionali tipizzate*', sono capaci di contribuire alla soluzione di problemi connessi alle '*controversie nutrizionali*' per la presenza di *molecole 'bioattive'*, che, pur se presenti in piccole quantità, contribuiscono al mantenimento di un buono stato di salute.

Ognuno di questi TGA è armonicamente integrato con il proprio ambiente di allevamento, con il clima e con la flora che lo caratterizzano; l'unione armonica di queste condizioni, unitamente alle caratteristiche genetiche insite nei TGA, fornisce prodotti unici, di prestigio, non ripetibili altrove.

I TGA animali, utilizzando alimenti prodotti *in loco*, giocano un ruolo importante di '*traduttori biologici*' in quanto capaci di trasformare le molecole presenti nel foraggio, non adatte all'utilizzazione diretta da parte dell'uomo, in molecole '*biodisponibili*' per l'uomo stesso.

Recenti studi hanno dimostrato che nell'allevamento stallino, sia per l'elevato stress ossidativo, sia per il minor contenuto delle molecole antiossidanti, si registra un minor livello di protezione antiossidante nel prodotto alimentare utilizzato direttamente dall'uomo. Proprio per

questo, l'allevamento al pascolo, considerato un fattore di limitazione di sviluppo intensivo, va visto ora come una fonte ricca di molecole biologicamente attive trasferibili *in toto* o in parte al prodotto finito. In tale contesto il germoplasma animale autoctono, a cui sono connessi sistemi di allevamento '*tradizionali*', con particolare riferimento al pascolo, può costituire una fonte naturale di alimenti dotati di proprietà '*extranutrizionali*'.

Pertanto, i TGA svolgerebbero un *ruolo cardine per la sostenibilità salutistica e sanitaria*, per l'uomo e per l'animale, con riflessi positivi anche sulla sostenibilità economica. E' necessario però che anche il prodotto '*tradizionale tipizzato*' sia *certificato qualitativamente* a partire dal momento produttivo attraverso un sinergismo d'azione tra tutti gli operatori della filiera produttiva (allevamento, trasformazione e distribuzione), in modo da giungere alla cosiddetta '*qualità totale*'.

Pertanto, premesso ciò, *pur nell'ambito della globalizzazione in corso*, il recupero, la conservazione, la caratterizzazione, nonché la valorizzazione delle popolazioni animali autoctone, tramite i loro prodotti, sono vie da perseguire nell'ottica della tutela della biodiversità e delle richieste del consumatore, sempre più orientato verso alimenti non solo con qualità organolettiche peculiari, ma soprattutto sicuri e ricchi di proprietà *nutrizionali* ed *extranutrizionali*.

2. SCOPO

La proposta attività di ricerca, che rientra nell'ampia problematica della tutela dei tipi genetici minacciati di estinzione, si propone la *tipizzazione individuale* [genetica (molecolare e citogenetica) e *produttiva*] del TG ovino *Laticauda*, con *particolare riguardo alla valutazione della qualità chimico-nutrizionale e chimico-extranutrizionale degli alimenti* (carne, latte e derivati) da esso prodotti, quale tappa fondamentale per la valorizzazione di tale TG e il rafforzamento nonché il miglioramento del sistema produttivo, di trasformazione e di commercializzazione del prodotto carne, latte e derivati, per giungere alla definizione di un DOP '*agnello Laticauda*' così come del '*pecorino di Laticauda sannita*'.

3. RISULTATI ATTESI

(a) Rivitalizzazione economica di una realtà zootecnica quale quella ricadente nel territorio Sannita mediante la selezione e il miglioramento genetico delle produzioni zootecniche ottenibili dall'ovino *Laticauda* soprattutto nell'ottica di un recupero e di valorizzazione di alcuni sistemi produttivi, quali una zootecnia di tipo semibrado basata sull'utilizzo di risorse pabulari alimentari ottenute in azienda e pienamente coincidente con una agricoltura di tipo sostenibile. Ciò anche al fine di definire standard qualitativi capaci di rivalutare fortemente il valore economico

delle produzioni vendibili che potranno raggiungere un livello di ottimizzazione proprio di un prodotto *'tradizionale tipizzato'*, anche mediante la realizzazione di un DOP (denominazione di origine protetta). Questo permetterebbe il recupero di alcune tecniche di produzione artigianale per l'ottenimento di prodotti di qualità e tipici, per materia prima utilizzata, per tecnica di lavorazione e per zona di produzione.

(b) Contributo, tramite i prodotti *'tradizionali tipizzati'*, al *'sistema nutrizionale umano'*, specialmente alla luce delle *mutate dinamiche esigenze nutrizionali* dell'uomo considerato nella sua realtà spaziale di vita e nella sua dinamica variazione (temporale e spaziale) delle categorie demografiche. Questo potrebbe contribuire ad aumentare l'intrinseco valore del TG in esame in termini di produzione vendibile, che risulta essere già superiore rispetto a quello degli altri TG (non meno di 360,00 Euro/anno/pecora allevata).

(c) Controllo della filiera produttiva, offrendo una garanzia di origine del prodotto; infatti, l'identificazione del genotipo ai *loci* microsatellitari consentirebbe, non solo di discriminare il TGA in esame, ma di definire, per ciascun soggetto, una carta molecolare d'*identità*' permettendo, così, di seguire il destino dell'animale lungo l'intera filiera produttiva.

(d) Sensibilizzazione del mondo imprenditoriale alla realizzazione di uno *'sviluppo rurale multifunzionale sostenibile'* in armonia con quanto previsto dalle misure di sviluppo rurale stabilite dal recente Regolamento CE n. 445/2002 del 26.II.02, con la istituzione di una rete di *'allevatori custodi'* consapevoli del ruolo di *'difesa territoriale'* dell'allevamento

4. ARTICOLAZIONE DELLA RICERCA

La ricerca interessa circa 160 soggetti iscritti al Libro Genealogico e distribuiti in diversi allevamenti del territorio sannita.

4.1. Tipizzazione individuale

Essa rappresenta il punto di partenza per la definizione delle potenzialità produttive e per lo sviluppo della risorsa genetica animale

4.1.1. Tipizzazione genetica

4.1.1.1. Tipizzazione molecolare

4.1.1.1.1. Studio della variabilità genetica

Lo studio della variabilità genetica costituisce una tappa fondamentale sia per la diversificazione produttiva, sia per assicurare alle generazioni future un patrimonio noto e ben caratterizzato di geni atti a soddisfare le dinamiche esigenze della popolazione umana.

La stima del grado di variabilità genetica viene effettuata mediante:

(a) *analisi microsatellitare*: su circa 100 soggetti si procede all'identificazione del genotipo ai 27 *loci* microsatellitari, suggeriti dalla FAO, mediante PCR (*polymerase chain reaction*) e sequenziatore automatico di DNA (*ABI PRISM 310 Genetic Analyzer Perkin Elmer*). I dati ottenuti sono analizzati mediante appositi *software* statistici per il calcolo dei principali parametri di popolazione.

(b) *analisi dei polimorfismi ai loci lattoproteici*: l'identificazione delle varianti genetiche ai *loci* lattoproteici: α_{S1} -Cn, α_{S2} -Cn, β -Cn, k-Cn, β -lattoglobulina e a-lattoalbumina mediante PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e successiva analisi con enzimi di restrizione.

4.1.1.2. Tipizzazione citogenetica

4.1.1.2.1. Cariotipo

Esecuzione di Cariotipo (CA) convenzionale al fine di caratterizzare l'assetto cromosomico di ciascun soggetto e di individuare la presenza di eventuali "*modificazioni cromosomiche naturali*".

4.1.1.2.2. Valutazione della stabilità genomica

Il grado di stabilità genomica del TG Laticauda viene individuato attraverso la valutazione della frequenza dei micronuclei (MN) spontanei.

4.1.2. Tipizzazione produttiva

4.1.2.1. Latte e derivati

L'indagine interessa 100 pecore allevate in 4 aziende. Ciascun soggetto viene sottoposto al controllo funzionale per la produzione lattea. Ogni campione individuale di latte, prelevato in concomitanza del controllo funzionale, è analizzato per la determinazione della sostanza secca, del numero di cellule somatiche, del pH, della composizione chimica centesimale (grasso, proteine, lattosio, minerali) e dell'attitudine alla coagulazione presamica.

La determinazione delle caratteristiche lattodinamiche è effettuata al fine di caratterizzare il latte destinato alla trasformazione. Si procede utilizzando la metodica suggerita da Zannoni e Annibaldi (1981), impiegando caglio liquido Hansen, con titolo di 1:15.000 e con diluizione di 1,6. Questo metodo consente di calcolare i parametri: durata della fase enzimatica (*r*), velocità di coagulazione (*k20*) e consistenza del coagulo (*a30*) a un tempo definito dall'inizio della coagulazione.

Per la valutazione delle molecole bioattive di importanza salutistica, le *routinarie* analisi vengono integrate con indagini più avanzate quali:

(a) determinazione, nella frazione lipidica del latte, del contenuto in CLA (*conjugated linoleic acid*, miscela di 8 acidi grassi insaturi C18:2, isomeri *cis e trans* dell'acido linoleico coniugato) per i quali sono stati riconosciuti azione antitumorale, nonché proprietà antiaterogeniche, immunomodulanti, antidiabetiche e di promotori della crescita; il latte ovino, rispetto a quello bovino e a quello caprino, ne è particolarmente ricco (1,2% vs 0,7% vs 0,6%) e studi preliminari hanno dimostrato che il loro tenore, essendo influenzato dall'alimentazione a cui l'animale è sottoposto, tende a raddoppiare nel latte di animali alimentati con foraggi verdi evidenziando, pertanto, l'influenza positiva del pascolo;

(b) determinazione del rapporto fosfolipidi/colesterolo con particolare riguardo ai fosfolipidi con potenziali proprietà salutistiche;

(c) determinazione dei livelli di alcuni antiossidanti naturali vitaminici come α -tocoferolo e β -carotene;

(d) controllo del livello delle aflatoossine B1 e M1 nell'area di allevamento del soggetto produttore.

Lo studio prevede prove individuali di caseificazione per l'ottenimento di 'formaggio fresco' (stagionato per un periodo di 12÷24 ore), 'formaggio semi-stagionato' (stagionato per un periodo di 24÷48 giorni) e 'formaggio stagionato' (stagionato per non meno di 120 giorni) come previsto dal disciplinare di produzione della Denominazione di Origine Protetta (DOP) del 'pecorino di *Laticauda sannita*'; sul pecorino al termine della stagionatura sono effettuati i seguenti rilievi: resa, caratteristiche biochimiche, chimiche, fisiche (colorimetriche, reologiche, ecc.), nonché sensoriali.

4.1.2.2. Carne

Per giungere alla definizione dei parametri di qualità utili per la promozione della carne di agnello prodotta in Campania, determinando una spinta alla produzione e commercializzazione di un 'agnello *Laticauda*' che per la sua storia, 'originalità' e 'immagine naturale' potrebbe fregiarsi della denominazione di 'prodotto tipico', si procede alla macellazione di 60 agnelli *Laticauda*, 30 maschi e 30 femmine, nati da parto singolo e plurimo, differenziando tra parto gemellare e trigemino. Recentemente, infatti è stato rilevato che dai 60 ai 120 giorni di età, i soggetti nati da parto trigemino hanno un incremento ponderale (7,922 kg) significativamente più elevato rispetto ai soggetti nati da parto singolo (3,675 kg) e gemellare (4,530 kg) (Matassino *et al.*, 2000).

Sul *gluteobiceps* (Gb), sul *semimembranosus* (Sm) e sul *longissimus dorsi* (LD), rappresentativi dei tagli più commercializzati, è effettuato lo studio istologico, inteso come

determinazione del suo profilo istoenzimatico. Viene rilevato il rapporto percentuale dei tre tipi di fibra muscolare (*fast glycolitic*=FG, *fast oxidative-glycolitic*=FOG e *slow oxidative*=SO), nonché l'area di sezione trasversale, utile come stima del grado di ipertrofia muscolare.

Il rilievo delle caratteristiche di tessitura (reologia) e degli indicatori di colore (L^* , a^* , b^* , croma, tinta e curva spettrofotometrica) viene effettuato sui muscoli: *rectus femoris* (RF), Gb, Sm e LD. Per il muscolo LD, il rilievo delle caratteristiche reologiche è effettuato anche su campioni di carne cotta.

Per i parametri biochimici vengono effettuate: analisi chimica centesimale, proteomica e composizione in acidi grassi; i campioni derivano dai muscoli LD e Gb.

PROGRAMMA DI RICERCA

VALORIZZAZIONE DEL TIPO GENETICO AUTOCTONO (TGA) SUINO 'CASERTANA'

1. PREMESSA

La presente ricerca rientra nell'ampia problematica del recupero e della valorizzazione dei tipi genetici autoctoni (TGA) minacciati di estinzione, con particolare riferimento alle strategie di conservazione *'in situ'* della biodiversità animale.

La diversità biologica, quale espressione di una diversità d'informazione genetica, deve essere considerata una vera e propria, se non unica, ricchezza reale: solo un ampio spettro genico è garanzia del divenire degli esseri viventi. Il germoplasma autoctono, oltre a costituire un patrimonio dallo straordinario valore culturale di documentazione storica e biologica, va sempre di più considerato per il suo ruolo insostituibile nel fornire derrate alimentari di qualità, in grado di soddisfare le diversificate esigenze alimentari dell'uomo. Le *peculiarità organolettiche, nutrizionali ed extranutrizionali* dei prodotti forniti dai TGA costituiscono un importante elemento per un'ampia utilizzazione di essi nelle aree *difficili*, anche ai fini della tutela del territorio e delle tradizioni.

Il concetto di qualità, però, non interessa solo l'alimento, ma deve coinvolgere tutta la sua storia, che inizia con l'individualità dell'animale che fornisce quell'alimento per l'uomo e che viene allevato in un determinato microambiente. Da ciò scaturisce la necessità della *tipizzazione individuale* dell'animale al fine di ottenere informazioni che costituiscono il punto di partenza per raggiungere il traguardo di una nuova visione del rapporto *'uomo - natura'* inteso nella sua accezione più ampia. Tale obiettivo è perseguibile solo con un notevole miglioramento della professionalità dell'imprenditore zootecnico, qualunque sia il livello dimensionale della sua azienda.

Il TGA suino *'Casertana'* era diffuso nelle regioni centro - meridionali d'Italia oltre che per la sua attitudine al pascolamento anche per le sue doti di precocità e di notevole *'capacità al costruttivismo'*, qualità queste che già nel XIX secolo furono apprezzate da allevatori inglesi che la importarono per il miglioramento delle popolazioni suine locali.

Nell'ultimo trentennio la consistenza di tale TGA è andata progressivamente contraendosi. Attualmente, la consistenza della Casertana è di circa 210 capi, dei quali circa il 28% non iscritti al Registro anagrafico, così ripartiti per categoria demografica: circa 50 % maschi, di cui il 75% verri e il 25% in età pre-riproduttiva e circa il 50% femmine, di cui il 30% scrofe e il 70 % in anteparto. Circa 160 capi sono allevati presso il ConSDABI, i rimanenti sono distribuiti quasi esclusivamente in alcune aziende collinari della Campania, prevalentemente nelle province di Caserta e di Benevento.

2.SCOPO

Scopo della ricerca è quello di individuare le possibilità di tutela e di utilizzazione zootecnica dell'ecotipo suino autoctono campano 'Casertana' mediante la sua *tipizzazione individuale* [*genetica* (molecolare e citogenetica) e *produttiva*]. Attraverso la conoscenza delle peculiarità di questo TGA si vuole giungere all'ottenimento di prodotti '*tradizionali tipizzati*': '*salsiccia del Sannio*', '*salame Napoli*', '*soppressata del Sannio*', '*capocollo del Sannio*', '*fiocco del Sannio*', '*prosciutto stagionato del Sannio*', '*lardo del Sannio*', '*pancetta del Sannio*' (distesa e arrotolata), (nonché '*prosciutto di Pietraroia*'). In tal modo si contribuirà a rivitalizzare la microeconomia locale attraverso la produzione di salumi e di insaccati garantiti da certificazioni di qualità, con peculiari proprietà qualitative e nutrizionali e tipici per la materia utilizzata, per il diagramma di trasformazione e per la zona di produzione, recuperando alcune tecniche di produzione artigianale degli insaccati e dei prosciutti .

3. RISULTATI ATTESI

- (a) Selezione di soggetti con peculiari caratteristiche quanti – qualitative e nutrizionali della carne.
- (b) Produzione di salumi tipici con caratteristiche idonee all'istituzione della DOP (o della IGP).
- (c) Recupero e ripristino integrale e integrato di tradizioni produttive destinate all'abbandono.
- (d) Salvaguardia e recupero del territorio nella visione di una '*ruralità multifunzionale sostenibile*'.
- (e) Miglioramento della professionalità dell'imprenditore zootecnico e la formazione di personale qualificato dal punto di vista tecnico-scientifico.

4. ARTICOLAZIONE DELLA RICERCA

La ricerca viene condotta su 15 maschi castrati e 15 femmine intere appartenenti al TGA Casertana (Cas). I soggetti vengono macellati al raggiungimento di un peso vivo stallato medio non inferiore a 160 kg. Per ogni suino vengono preparati i prodotti '*tradizionali tipizzati*': '*salsiccia del Sannio*', '*salame Napoli*', '*soppressata del Sannio*', '*capocollo del Sannio*', '*fiocco del Sannio*', '*prosciutto stagionato del Sannio*', '*lardo del Sannio*', '*pancetta del Sannio*' (distesa e arrotolata), (nonché '*prosciutto di Pietraroia*').

4.1. Tipizzazione genetica

4.1.1. Tipizzazione molecolare

4.1.1.1. Studio della variabilità genetica attraverso l'analisi microsatellitare

Identificazione del genotipo ai 27 *loci* microsatellitari, suggeriti dalla FAO, mediante PCR (*polymerase chain reaction*) nonché mediante sequenziatore automatico di DNA (*ABI PRISM 310 Genetic Analyzer Perkin Elmer*). I dati ottenuti vengono analizzati utilizzando appositi *software* statistici per il calcolo dei parametri di popolazione.

4.1.1.2. Studio di alcuni geni coinvolti nel determinismo della caratteristiche qualitative della carcassa e della carne suina

(a) Analisi del genotipo al locus *CRC* (*calcium release channel*)

Identificazione dei soggetti portatori dell'allele mutato, responsabile dell'ipertemia maligna (MH, *malignant hyperthermia*), che, tra l'altro, si manifesta con la miopatia essudativa (carni PSE, *pale, soft, exudative*). Lo studio è importante al fine di eliminare dal circuito riproduttivo i parenti del soggetto che dovesse risultare portatore dell'allele mutato. L'analisi è effettuata mediante la tecnica P C R –RSSA (*polymerase chain reaction – restriction specific site analysis*).

(b) Analisi dei polimorfismi a carico di *loci* candidati per il contenuto del grasso intramuscolare.

L'analisi prevede lo *screening* individuale dei soggetti avvalendosi del test molecolare PCR-RFLP (*polymerase chain reaction – restriction fragment*).

4.1.2. Tipizzazione citogenetica

4.1.2.1. Cariotipo

Esecuzione di: (a) cariotipo (CA) convenzionale al fine di caratterizzare l'assetto cromosomico e di individuare eventuali '*modificazioni cromosomiche naturali*'; (b) CA bandeggiato con tecniche sequenziali GBG/CBA oppure RBG/CBA al fine di analizzare la distribuzione dell'eterocromatina costitutiva (HC); quest'ultima costituisce un valido strumento per la stima, a livello citogenetico, della variabilità tra gli individui entro il tipo genetico.

4.1.2.2. Valutazione della stabilità genomica

Valutazione della frequenza dei Micronuclei (MN) spontanei a età tipiche mediante la tecnica di Fenech e Morley (1986) per i linfociti umani, opportunamente modificata.

4.2. Tipizzazione produttiva

4.2.1. Rilievi *infra vitam*

Rilievo del peso vivo a età tipiche: nascita, 1 settimana, 1 mese, allo svezzamento, e successivamente, a intervalli di 3 mesi fino al raggiungimento del peso di 160-180 kg, con calcolo dell'incremento ponderale giornaliero medio, dell'indice di conversione alimentare, ecc..

4.2.2. Macellazione

La macellazione, previa rilevazione del peso vivo, viene effettuata tramite stordimento dell'animale con pinza elettrica, dissanguamento, depilazione con acqua calda a 65 °C, tolettatura della carcassa, eviscerazione e suddivisione della carcassa in 2 mezzene senza eliminare la testa.

4.2.3. Rilievi *post mortem*

Sulle carcasse, ottenute come al punto 4.2.2., sono effettuati i seguenti rilievi:

(a) *peso delle mezzene a caldo*: contemporaneamente vengono rilevati il *pH* e la *temperatura* in corrispondenza dello spazio interspinale fra la I e la II vertebra toracica e fra l'ultima toracica e la I lombare; dalla mezzena destra, entro 45' dal dissanguamento, vengono prelevati i campioni dei muscoli: *Longissimus Dorsi* (LD, Lungo dorsale), *Trapezius* (T, Trapezio) e *Psoas major* (PM, Grande psoas), da allestire su appositi supporti e da conservare in azoto liquido, per le successive analisi di caratterizzazione istologica del tessuto muscolare;

(b) *peso dei visceri*: vengono pesati: grasso peritoneale (omento o 'rezza'), milza, cistifellea, fegato, lingua, cuore pieno, cuore vuoto, polmone + trachea + esofago, apparato genitale, vescica piena, vescica vuota, stomaco pieno, stomaco vuoto, intestino pieno, intestino vuoto;

(c) *misure lineari*:

(i) lunghezza dell'intestino tenue e dell'intestino crasso+retto;

(ii) tre lunghezze della mezzena: (1) dal margine craniale della sinfisi pubica al margine craniale dell'atlante, (2) dal margine craniale della sinfisi pubica alla inserzione della I costola con la cartilagine ialina (punta di petto), (3) dal margine craniale della sinfisi pubica al margine craniale della I vertebra toracica;

(iii) spessore del grasso totale, del primo strato e della cotica in corrispondenza della prima vertebra toracica, dell'ultima vertebra toracica e del massimo spessore del muscolo Gluteo medio.

Sulla carcassa, posta in cella frigorifera alla temperatura di 0÷2 °C per 72 ore, vengono rilevati a intervalli prestabiliti (a 24 e a 72 h dalla macellazione), il *pH* e la temperatura.

La mezzena viene fotografata sia dalla faccia mediale che da quella dorsale e, con l'ausilio del Fat-o-meter, viene classificata secondo la griglia SEUROP.

Da una mezzena sono prelevati 'campioni' di carne sui quali effettuare il rilievo dei parametri qualitativi (reologici e colorimetrici) e biochimici. I campioni interessano i seguenti muscoli: *Caput longum tricipitis brachii* (CloTB, Capo lungo del tricipite), *Caput laterale tricipitis brachii* (ClaTB, Capo laterale del tricipite), *Supraspinatus* (Ss, Sopraspinato), LD e PM per reologia e colore; CloTB, LD, PM, nonché il taglio 'pancetta' per i parametri biochimici: composizione chimica centesimale, proteomica e composizione in acidi grassi. Per i muscoli CloTB e LD, il rilievo delle caratteristiche reologiche è effettuato anche su campioni di carne cotta.

Sul 'lardo' prelevato dalla spalla [a livello della terza-quarta vertebra toracica e a 5÷6 cm dal taglio mediano della mezzena, sia dello strato profondo (a contatto con la carne) che di quello superficiale (a contatto con la cotica)] e dal lombo [a livello dell'ultima vertebra lombare e delle prime sacrali e a 5÷6 cm dal taglio mediale della mezzena, sia dello strato profondo (a contatto con la carne) che di quello superficiale (a contatto con la cotica)], vengono effettuati i rilievi reologici e colorimetrici nonché la composizione in acidi grassi.

L'altra mezzena viene utilizzata per ottenere i prodotti 'tradizionali tipizzati'.

4.2.4. Prodotti 'tradizionali tipizzati'

La stagionatura dei prodotti 'tradizionali tipizzati' viene fatta in appositi locali controllati, di cui viene rilevata la temperatura e l'umidità 4 volte al giorno, a intervalli di 6 ore. Per la produzione di salumi non si utilizzano conservanti, anche se autorizzati.

'*Salsiccia del Sannio*': i componenti per la preparazione della '*salsiccia del Sannio*' vengono tritati separatamente (trafila n°10) e poi meccanicamente amalgamati; viene effettuato il rilievo del pH e della temperatura dell'impasto; dopo la stagionatura (30 giorni) si procede: alla valutazione sensoriale, a effettuare i rilievi tessurometrici e colorimetrici, nonché alla determinazione della composizione chimica centesimale.

'*Salame Napoli*': viene destinata per la preparazione del '*salame Napoli*' la carne separabile di una mezzena di ogni singolo soggetto dalle '*costatelle di filetto*', delle '*tracchie*', dalla '*pancetta*', dalla '*spalla*' e della '*rifilatura del prosciutto di coscia*'; i componenti per la preparazione del '*salame Napoli*' vengono tritati separatamente (trafila n°12) e successivamente amalgamati; viene effettuato il rilievo del pH e della temperatura; viene utilizzato l'intestino di suino; il '*salame*' ha una lunghezza di circa 20 cm e un diametro di circa 6÷7 cm; al termine della stagionatura (45 giorni) alcuni '*salami*' (per ogni suino) vengono conservati '*sotto sugna*' e altri '*sottovuoto*'; la valutazione sensoriale, i rilievi tessurometrici e colorimetrici nonché la determinazione della

composizione chimica centesimale vengono effettuati a 45 giorni di stagionatura, nonché dopo 45 e 135 giorni di conservazione.

'Soppressata del Sannio': la carne separabile (l'altra mezzena di ogni singolo soggetto) dalle *'costatelle di filetto'*, dalla *'spalla'* (solo carne chiara) e della *'rifilatura del prosciutto di coscia'* (solo carne chiara) viene tritata (trafila n°10) e destinata alla preparazione della *'soppressata del Sannio'*; all'impasto si aggiungono cubetti di grasso provenienti dalla rifilatura del prosciutto pari al 5% dell'impasto stesso; viene effettuato il rilievo del pH e della temperatura; viene impiegato l'intestino di suino; ciascun salame ha una lunghezza di circa 20 cm e un diametro di circa 8÷10 cm; al termine della stagionatura (45 giorni) alcuni *'salami'* (per ogni suino) vengono conservati *'sotto sugna'* e altri *'sottovuoto'*; la valutazione sensoriale, i rilievi tessurometrici e colorimetrici nonché la determinazione della composizione chimica centesimale vengono effettuati a 45 giorni di stagionatura e dopo 45 e 135 giorni di conservazione.

'Capocollo del Sannio': il prodotto è preparato utilizzando la carne della parte superiore delle *'costatelle di collo'*; la salatura dura da 6 a 10 giorni; dopo la stagionatura (6 mesi circa) vengono eseguite: la valutazione sensoriale e la determinazione della composizione chimica centesimale.

'Fiocco del Sannio': il prodotto è preparato utilizzando la carne della parte posteriore del prosciutto (St, Semitendinoso; Sm, Semimembranoso; BF, Bicipite femorale); la salatura dura da 4 a 6 giorni; dopo la stagionatura (non meno di 6 mesi) vengono eseguiti: la valutazione sensoriale, i rilievi reologici e colorimetrici, nonché la composizione chimica centesimale.

'Prosciutto stagionato del Sannio': dopo la rifilatura si procede a una valutazione prendendo come parametri la *'forma'*, *'l'adiposità'* e la *'consistenza della carne'*; dopo la stagionatura (24 mesi) il *'prosciutto stagionato'* viene valutato in funzione di alcune caratteristiche esteriori e, successivamente, si procede a rilevare:

- (a) lunghezza massima, larghezza massima, larghezza alla base del gambo, circonferenza massima, spessore massimo nonché spessore del lardo sottocutaneo nei pressi della testa del femore;
- (b) peso totale e peso tolettato;
- (c) le caratteristiche colorimetriche e reologiche, nonché la valutazione sensoriale soggettiva (*panel test*).

'Lardo del Sannio': dopo la rifilatura, il *'lardo'* viene messo in salamoia (circa 10 giorni) in bacinelle di legno o di pietra, previa aggiunta di aromi; al termine della stagionatura (circa 4 mesi) si procede: alla valutazione delle caratteristiche reologiche e colorimetriche, alla determinazione della composizione chimica centesimale e di quella degli acidi grassi.

'Pancetta del Sannio': si producono due tipi di *'pancetta'*: *'arrotolata'* e *'distesa'*. *'Pancetta arrotolata'*: dopo circa 3 giorni di salatura viene arrotolata, previa aggiunta di aromi; al termine della stagionatura (circa 6 mesi) si procede: alla valutazione delle caratteristiche reologiche e colorimetriche, alla determinazione della composizione chimica centesimale e di quella degli acidi grassi. *'Pancetta distesa'*: dopo circa 10 giorni di salatura vengono aggiunti gli aromi; al termine della stagionatura (circa 6 mesi) si procede: alla valutazione delle caratteristiche reologiche e colorimetriche, alla determinazione della composizione chimica centesimale e di quella degli acidi grassi.

'Salumi': sui diversi prodotti si procede a effettuare analisi di proteomica e delle catepsine (B e L in particolare) coinvolte nei processi di proteolisi e nello sviluppo del profilo sensoriale dei prodotti stagionati. La conoscenza di questi parametri è di primaria importanza per la definizione delle caratteristiche *'nutrizionali'*, *'extranutrizionali'*, nonché di *'tipicità'* del prodotto.

PROGRAMMA DI RICERCA

VALORIZZAZIONE DEL TIPO GENETICO (TG) BOVINO 'MARCHIGIANA'

1. Premessa

Il germoplasma autoctono costituirà un tassello sempre più importante nel cambiamento che interesserà l'agroecosistema attuale, contribuendo a rendere operativa la nuova concezione di '*ruralità multifunzionale sostenibile*', accettata nella sua pienezza contenutistica nella recente conferenza del WTO tenutasi a Doha (Qatavi) nell'ottobre 2001 e da interpretare in chiave *sistemica* di integrazione tra le seguenti funzioni della ruralità: **(a)** *sicurezza alimentare* (nuova funzione primaria a livello di pianeta terra); **(b)** *funzione ambientale*; **(c)** *funzione sociale*; **(d)** *funzione economica*; **(e)** *funzione culturale*.

La conservazione del germoplasma animale autoctono non deve e non può costituire un'operazione fine a se stessa, ma deve rappresentare la premessa per una corretta utilizzazione zootecnica del patrimonio conservato. Essa deve favorire il ripristino di un rapporto uomo-animale - territorio in grado di indurre una rivitalizzazione delle microeconomie locali.

Il tipo genetico (TG) Marchigiana è presente in Campania con una consistenza pari a 8259 capi iscritti al Libro genealogico, di cui 7018 capi allevati in provincia di Benevento (dati ANABIC 2001) distribuiti in piccoli allevamenti locali spesso a conduzione familiare; questi ultimi, in quanto tali, contribuiscono solo parzialmente allo sviluppo della consapevolezza dell'esistenza di un patrimonio naturale, economico e culturale ricevuto dalle generazioni precedenti, e che, doverosamente, va tutelato per essere, poi, tramandato alle generazioni future quale base, non solo per una crescita del comparto zootecnico, ma soprattutto per un auspicabile mantenimento della varietà degli alimenti.

Attraverso i risultati di alcune recenti ricerche si è giunti alla conoscenza delle caratteristiche produttive del tipo genetico Marchigiana evidenziando, oltre alla già ben documentata attitudine alla produzione della carne, anche una notevole potenzialità alla produzione del latte soprattutto in termini di tipicità, di qualità e di sicurezza alimentare, in modo da svolgere nelle diverse aree collinari e submontane del Mezzogiorno, un ruolo non facilmente sostituibile.

Tale risorsa genetica può dare un grande contributo a incrementare il reddito dell'imprenditore. Infatti, da una serie di stime è risultato che in una bovina con prevalente attitudine alla produzione lattea (Frisona Italiana) e con una produzione annua di 40 – 50 q di latte la differenza tra il valore della produzione vendibile (latte + carne) e il relativo costo (alimentazione + mungitura + governo) varia da € 413,17 a € 877,98; considerando, invece, due bovine marchigiane, producenti, complessivamente, la stessa quantità di latte, la suddetta differenza varia da € 774,69 a € 1291,14; questa variazione, entro il TG, è funzione del sistema di tenuta (stalla

aperta o chiusa) e del peso vivo della vacca. I suddetti valori evidenziano che, a parità di condizioni, è più conveniente allevare due bovine marchigiane al posto di una vacca con prevalente attitudine alla produzione lattea.

Pertanto, la nuova sfida è quella di investire per razionalizzare l'impiego in zootecnia di animali idonei all'ottenimento di prodotti coerenti con una gestione agricola integrata nell'ambiente al fine di poter attuare tutte quelle strategie future connesse al raggiungimento di traguardi dinamici, ma propri di un sistema produttivo sostenibile.

2. Scopo della ricerca

L'attività di ricerca si propone di indagare sulle potenzialità produttive del TG bovino 'Marchigiana' considerando la duplice attitudine: carne e latte. Attraverso la *tipizzazione individuale genetica* (molecolare e citogenetica) e *produttiva* del TG bovino 'Marchigiana' si vuole giungere all'ottenimento di prodotti '*tradizionali tipizzati*', quale potrebbe essere il '*caciocavallo di Marchigiana*', e alla valorizzazione delle particolari caratteristiche qualitative delle carni.

3. Risultati attesi

- (a) Definizione degli standard qualitativi al fine di una rivalutazione economica dei prodotti vendibili (carne e latte) che potranno raggiungere un livello di ottimizzazione proprio di un prodotto '*tradizionale tipizzato*'.
- (b) Contributo a una razionalizzazione sia economica che sanitaria delle attuali produzioni, determinando, pertanto, un forte valore aggiunto.
- (c) Disponibilità di tutte quelle indicazioni indispensabili sia per realizzare una catena produttiva (filiera) completa (dal produttore al consumatore) che per disporre di parametri indispensabili per una certificazione a livello di singola fase del processo produttivo al fine di raggiungere il traguardo della qualità 'totale'.
- (d) Istituzione di un' eventuale "*azienda collaudo*" che, rientrando in una strategia di conservazione "*in situ*", funga da centro di aggregazione delle singole iniziative assicurando il mantenimento delle potenzialità del patrimonio zootecnico disgregato sul territorio.

4. Articolazione della ricerca

4.1. Tipizzazione individuale genetica

Essa rappresenta il punto di partenza per la definizione delle potenzialità produttive e per lo sviluppo della risorsa genetica animale

4.1.1. Studio della variabilità genetica

Lo studio della variabilità genetica costituisce una tappa fondamentale sia per la diversificazione produttiva che per assicurare alle generazioni future un patrimonio noto e ben caratterizzato di geni atti a soddisfare le dinamiche esigenze della popolazione umana.

Esso prevede :

(a) *analisi microsatellitare*; si procede all'identificazione del genotipo ai 30 *loci* microsatellitari, suggeriti dalla FAO, mediante PCR (*polymerase chain reaction*) nonché mediante sequenziatore automatico di DNA (*ABI PRISM 310 Genetic Analyzer Perkin Elmer*). In particolare, sono presi in esame alcuni *loci* microsatellitari localizzati sui cromosomi 1 e 29 che potrebbero fornire informazioni utili alla comprensione del fenomeno della traslocazione *rob 1;29*

(b) *analisi dei polimorfismi ai loci lattoproteici*; si procede alla determinazione del genotipo ai seguenti *loci* lattoproteici: α S1-Cn, α S2-Cn, β -Cn, k-Cn, α -lattoalbumina e β -lattoglobulina mediante PCR (*polymerase chain reaction*) e analisi con enzimi di restrizione.

4.1.2. Studio di alcuni geni coinvolti nel determinismo della caratteristiche qualitative della carne

Si procede all'identificazione del genotipo al *locus* della miostatina per l'individuazione dei soggetti portatori dell'allele mutato, responsabile del fenomeno della ipertrofia muscolare, al fine di selezionare, entro il tipo genetico, linee ipertrofiche.

4.2. Tipizzazione citogenetica

4.2.1. Cariotipo

La determinazione del cariotipo (CA) bandeggiato secondo il metodo di Carpasson e successive modificazioni, è effettuata al fine di caratterizzare l'assetto cromosomico del soggetto e individuare eventuali portatori di "*modificazioni cromosomiche naturali*, con particolare riferimento alla traslocazione robertsoniana 1;29 (*rob 1;29*) allo stato eterozigote ($2n=59$) od omozigote ($2n=58$).

4.2.2. Valutazione della stabilità genomica

Il monitoraggio della frequenza dei micronuclei (MN) spontanei viene effettuato al fine di caratterizzare la popolazione del TG Marchigiana allevata nel Beneventano per la stabilità genomica.

4.3. Tipizzazione produttiva

4.3.1. Latte e derivati

La ricerca interessa 50 soggetti. Ciascuna bovina è sottoposta al controllo funzionale per la produzione lattea. Ogni campione individuale di latte, prelevato in concomitanza dei controlli funzionali, viene analizzato per la determinazione della sostanza secca, del numero di cellule somatiche, del pH e della composizione chimica centesimale (grasso, proteine, lattosio, minerali) e dell'attitudine alla coagulazione presamica; inoltre, con cadenza trimestrale il latte viene testato per la presenza di salmonella, di *Staphylococcus aureus*, di *Escherichia coli* e di aflatossine M1.

Per la valutazione delle molecole bioattive, le *routinarie* analisi sono integrate con indagini più avanzate quali:

(a) determinazione, nella frazione lipidica del latte, del contenuto in CLA (*conjugated linoleic acid*, miscela di 8 acidi grassi insaturi C18:2, isomeri *cis* e *trans* dell'acido linoleico coniugato) per i quali sono stati riconosciuti azione antitumorale, nonché proprietà antiaterogeniche, immunomodulanti, antidiabetiche e di promotori della crescita; studi preliminari hanno dimostrato che il loro tenore, essendo influenzato dall'alimentazione a cui l'animale è sottoposto tende a raddoppiare, nel latte di animali alimentati con foraggi verdi evidenziando, pertanto, l'influenza positiva del pascolo

(b) determinazione del rapporto fosfolipidi/colesterolo con particolare riguardo ai fosfolipidi con potenziali proprietà salutistiche

(c) determinazione dei livelli di alcuni antiossidanti naturali vitaminici come α -tocoferolo e β -carotene

(d) controllo del livello delle aflatossine B1 e M1 nell'area di allevamento del soggetto produttore

(e) caratterizzazione del profilo aromatico.

Inoltre, lo studio prevede prove individuali di caseificazione. Sul 'caciocavallo' a diversi periodi di stagionatura (30, 60,90, 120, 180 e 360 giorni) vengono effettuati alcuni rilievi: resa, caratteristiche biochimiche, chimiche, fisiche (colore mediante spettrofotometro U3000 con sfera integratrice, utilizzando la fonte luminosa A=2856° Kelvin e reologia mediante Texturometer), seguendo la metodica riportata da Matassino *et al.* (1974) su campioni prelevati dalla porzione centrale del 'caciocavallo', nonché rilievi sensoriali.

4.3.2. Carne

Gli aspetti quanti-qualitativi dell'espressione fenotipica (carattere) 'produzione carne' sono rilevati su 20 soggetti. Per ciascun bovino si procede alla macellazione, previo stordimento, e dopo

4 giorni a 2-4 °C, si effettua la sezionatura con prelievo dei campioni dai muscoli *Caput longum tricipitis brachii* (CloTB), *Gluteo biceps* (Gb), *Semimembranosus* (Sm) e *Longissimus dorsi* (LD).

Durante la frollatura si rilevano pH e temperatura della carcassa a intervalli di 6 ore per seguire l'evolversi delle fasi di *rigor mortis*.

Su tutti e 4 i muscoli è effettuato il rilievo delle caratteristiche

- (a) biochimiche: composizione chimica centesimale e proteomica
- (b) fisiche (reologia: durezza, masticabilità, forza di taglio, compressione; colore: L*, a*, b*, croma, tinta e curva spettrofotometrica)
- (c) sensoriali.

La composizione in acidi grassi viene rilevata sui muscoli Gb e LD.

La determinazione delle caratteristiche morfometriche (area, diametro massimo, diametro minimo e perimetro) e della distribuzione percentuale dei tre principali tipi di fibra muscolare (FG=*fast glycolytic*, FOG = *fast oxidative glycolytic* e SO=*slow oxidative*) viene effettuata sui muscoli Sm, Gb e LD prelevati entro 45 minuti dalla macellazione.

PROSPETTO ANALITICO DI PREVENTIVO FINANZIARIO PER ATTIVITA' DI RICERCA

Progetto: Valorizzazione del tipo genetico (TG) ovino '*Laticauda*'.

Ente o Istituto: Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecniche Innovative -
- *National Focal Point* Italiano della FAO (ConSDABI - NFP.I. - FAO).

Responsabile della Ricerca: Prof. Donato Matassino

Anno Inizio: 2003

VOCE	Anni			
	2003	2004	2005	Tutti
	IMPORTO IN EURO			
1. INDENNITA' DI MISSIONE E SPESE DI VIAGGIO				
<i>1.1 personale scientifico interessato agli spostamenti</i>	5.200,00	5.200,00	5.200,00	15.600,00
<i>1.2 altro personale</i>	1.000,00	1.000,00	1.000,00	3.000,00
TOTALE 1.	6.200,00	6.200,00	6.200,00	18.600,00
2. PERSONALE A CONTRATTO E/O BORSISTA (n.4)	68.688,41	68.688,41	68.688,41	206.065,22
3. CONSULENZE ED INCARICHI PROFESSIONALI (Elaborazione dati, Caseificazioni, Macellazione e sezionatura di n. 60 soggetti, Analisi chimico-fisica e batteriologica del latte)	24.006,00	540,00	240,00	24.786,00
4. SPESE PER CARBURANTE E MANUTENZIONE AUTO NONCHE' PER MANUTENZIONE RELATIVA ALLA APPARECCHIATURA SCIENTIFICA	1.500,00	11.496,00	11.496,00	24.492,00
5. SPESE PER LABORATORI	54.053,93	53.053,93	43.706,26	150.814,12
TOTALE (1+2+3+4+5+6+7)	154.448,34	139.978,34	130.330,67	424.757,34
6. SPESE GENERALI (10%)	15.444,83	13.997,83	13.033,07	42.475,73
<u>TOTALE GENERALE</u>	169.893,17	153.976,17	143.363,73	467.233,07

PROSPETTO ANALITICO DI PREVENTIVO FINANZIARIO PER ATTIVITA' DI RICERCA

Progetto: Valorizzazione del tipo genetico autoctono (TGA) suino 'Casertana'.

Ente o Istituto: Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecniche Innovative -
- National Focal Point Italiano della FAO. (ConSDABI - NFP.I. - FAO).

Responsabile della Ricerca: Prof. Donato Matassino

Anno Inizio: 2003

VOCE	Anni			
	2003	2004	2005	Tutti
IMPORTO IN EURO				
1. INDENNITA' DI MISSIONE E SPESE DI VIAGGIO				
<i>1.1 personale scientifico interessato agli spostamenti</i>	<i>5.200,00</i>	<i>5.200,00</i>	<i>5.200,00</i>	<i>15.600,00</i>
<i>1.2 altro personale</i>	<i>1.000,00</i>	<i>1.000,00</i>	<i>1.000,00</i>	<i>3.000,00</i>
TOTALE 1	6.200,00	6.200,00	6.200,00	18.600,00
2. PERSONALE A CONTRATTO E/O BORSISTA (n.5)	89.863,71	89.863,71	89.863,71	269.591,13
3. CONSULENZE ED INCARICHI PROFESSIONALI (Elaborazione dati, Addestramento giuria Panel taste, Macellazioni di n. 30 soggetti, lavorazione e stagionatura dei prodotti ottenuti)	8.780,00	6.200,00	13.950,00	28.930,00
4. SPESE SANITARIE E VETERINARIE	5.423,00	5.733,00	5.733,00	16.889,00
5. SPESE PER CARBURANTE E MANUTENZIONE AUTO NONCHE' PER MANUTENZIONE RELATIVA ALLA APPARECCHIATURA SCIENTIFICA	1.500,00	11.830,00	11.830,00	25.160,00
6. SPESE PER LABORATORI	31.894,93	30.584,93	29.077,51	91.557,37
7. ACQUISTO ATTREZZATURA TECNICO-SCIENTIFICO (Fat-o-meter, Colorimetro Minolta, pHmetro, Termoigrometri)	46.971,00			46.971,00
TOTALE (1+2+3+4+5+6+7)	190.632,64	150.411,64	156.654,22	497.698,50
8. SPESE GENERALI (10%)	14.366,16	15.041,16	15.665,42	45.072,75
<u>TOTALE GENERALE</u>	204.998,80	165.452,80	172.319,64	542.771,25

PROSPETTO ANALITICO DI PREVENTIVO FINANZIARIO PER ATTIVITA' DI RICERCA**Progetto: Valorizzazione del tipo genetico (TG) bovino 'Marchigiana' .****Ente o Istituto:** Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecniche Innovative -
- *National Focal Point* Italiano della FAO (ConSDABI – NFP.I. – FAO).**Responsabile della Ricerca:** Prof. Donato Matassino**Anno Inizio:** 2003

VOCE	Anni			
	2003	2004	2005	Tutti
	IMPORTO IN EURO			
1. INDENNITA' DI MISSIONE E SPESE DI VIAGGIO				
<i>1.1. personale scientifico interessato agli spostamenti</i>	5.200,00	5.200,00	5.200,00	15.600,00
<i>1.2. altro personale</i>	1.000,00	1.000,00	1.000,00	3.000,00
TOTALE 1.	6.200,00	6.200,00	6.200,00	18.600,00
2. PERSONALE A CONTRATTO E/O BORSISTA (n.5)	96.060,97	96.060,97	96.060,97	288.182,91
3. CONSULENZE ED INCARICHI PROFESSIONALI (Elaborazione dati, Caseificazioni, Macellazione e sezionatura di n. 20 soggetti, Analisi chimico-fisica e batteriologica del latte)	6.097,89	1.066,66	8.816,66	15.981,21
4. SPESE PER CARBURANTE E MANUTENZIONE AUTO NONCHE' PER MANUTENZIONE RELATIVA ALLA APPARECCHIATURA SCIENTIFICA	1.500,00	1.500,00	1.500,00	4.500,00
5. SPESE PER LABORATORI	38.484,40	37.484,40	35.984,19	111.952,99
TOTALE (1+2+3+4+5+6+7)	148.343,26	142.312,03	148.561,82	439.217,11
6. SPESE GENERALI (10%)	14.834,33	14.231,20	14.856,18	43.921,71
<u>TOTALE GENERALE</u>	163.177,59	156.543,23	163.418,00	483.138,82



PROVINCIA di BENEVENTO

Settore Affari Generali - Personale

49

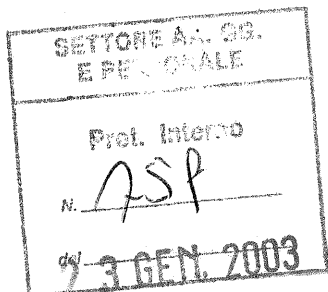
Prot. n.

Benevento, lì..... 22-1-03

U.O.: GIUNTA/Consiglio

AL DIRIGENTE DEL SETTORE
EDILIZIA E PATRIMONIO

AL PRESIDENTE
NUCLEO VALUTAZIONE
C/o PRESIDENZA



SEDE

**OGGETTO: DELIBERA N.12 DEL 20.1.2003 AD
OGGETTO: "APPROVAZIONE PROGETTO DI RICERCA NEL
SETTORE DELLA PROTEOMICA E DELLA TIPIZZAZIONE
GENETICA CON L'IMPIEGO DELLA TECNICA MICROARRAY".-**

Per quanto di competenza, si rimette una copia della delibera indicata in
oggetto, immediatamente esecutiva.

IL DIRIGENTE

Dr. Alfonsina Colarusso