

# SELEZIONE DI RIPRODUTTORI E TRACCIABILITA' DI PRODOTTI ANIMALI ASSISTITA DA MARCATORI GENETICI

## Soggetti Partecipanti:



**CNR**  
Istituto di Chimica Biomolecolare  
Sede di Padova  
www.icb.cnr.it



**PrimeAlpi**  
www.primealpi.it



**Lattebusche**  
www.lattebusche.it



**GORZAGRI**  
www.gorzagri.it



**Università degli Studi di Padova**  
www.unipd.it



**Dipartimento di Scienze Animali**  
Università degli Studi di Padova  
www.dsa.unipd.it

**Ente Finanziatore**



**Regione Veneto**

Azione Biotech II

## Obiettivi

Il presente progetto ha previsto quali obiettivi l'applicazione di tecniche biotecnologiche per effettuare una selezione assistita da marcatori (MAS) genetici di riproduttori appartenenti a linee suine e l'uso di tecniche NMR (risonanza magnetica nucleare) e di metodologie di quantificazione del contenuto in aminoacidi nel latte per la determinazione del profilo proteico, al fine di tracciare prodotti di origine animale.

## Utilizzo della Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) per la caratterizzazione di prodotti lattiero-caseari

### Materiali e Metodi

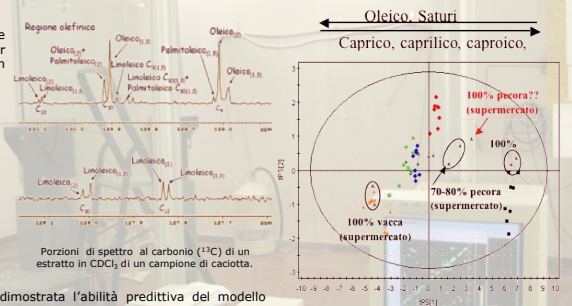
Sono state analizzate le frazioni lipidiche di caciotte prodotte con percentuali diverse di latte proveniente da specie differenti. Sono stati costruiti due set di campioni: un "training set" utilizzato per costruire il modello di analisi statistica, con il metodo dell'analisi delle componenti principali, ed un "test set" per la validazione del modello stesso.

**Training set:**  
8 campioni di caciotte ottenute con 100% latte bovino  
8 campioni di caciotte ottenute con 70% latte bovino, 30% latte ovino  
8 di caciotte ottenute con 50% latte bovino, 50% latte ovino  
8 di caciotte ottenute con 30% latte bovino, 70% latte ovino  
8 di caciotte ottenute con 100% latte ovino

**Test set**  
8 caciotte miste (2 per tipo)  
1 caciotta di latte bovino acquistata in supermercato  
1 caciotta di latte ovino acquistata in supermercato  
2 caciotte "d'Urbino" DOP acquistate in supermercato (20-30% latte bovino - dichiarato in etichetta).

### Risultati

Dall'analisi statistica degli spettri  $^{13}C$  si ottengono buone separazioni tra i campioni ed è stata dimostrata l'abilità predittiva del modello introducendo i dati derivanti dai formaggi di supermercato che vengono correttamente assegnati ad eccezione del pecorino 100%. Il non corretto assegnamento potrebbe essere dovuto al fatto che non si trattava di pecorino DOP e non possono essere quindi escluse sostituzioni con latte vaccino. Nel modello contribuiscono maggiormente i composti come, acido caprico, caproico e caprilico che caratterizzano i campioni contenenti latte di pecora che vengono direttamente secreti dalle ghiandole mammarie e non dipendono dall'alimentazione. Questo metodo costituisce un potenziale approccio per la verifica di eventuali adulterazioni di formaggi.



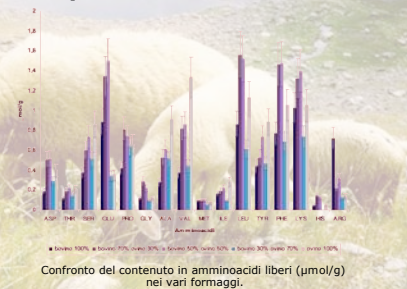
## Analisi della componente aminoacidica libera per la caratterizzazione di formaggi prodotti con percentuali diverse di latte proveniente da specie differenti

### Materiali e Metodi

Con il presente lavoro ci siamo proposti di caratterizzare dal punto di vista del contenuto in aminoacidi liberi, anche appartenenti alla serie sterica D-, formaggi prodotti con percentuali diverse di latte proveniente da specie differenti. In particolare, sono stati analizzati campioni di caciotta prodotta a partire da latte bovino (vacca) e latte ovino (pecora) nelle seguenti proporzioni (fra parentesi come verranno in seguito indicati): 100% bovino (bovino), misto 70% bovino-30% ovino (70-30), misto 50% bovino-50% ovino (50-50), misto 30% bovino-70% ovino (30-70), 100% ovino (ovino). La determinazione del contenuto in aminoacidi liberi è stata realizzata sulla frazione idrosolubile dei campioni di formaggio, opportunamente trattati, tramite analizzatore automatico di aminoacidi. Sugli stessi campioni è stata realizzata, tramite gascromatografia su colonna chirale, la determinazione della presenza di aminoacidi della serie sterica D-.

### Risultati

In generale appaiono significative le differenze nel contenuto dei singoli aminoacidi nei diversi formaggi. Sembra quindi possibile caratterizzare in base al contenuto di aminoacidi liberi un formaggio in funzione della specie da cui proviene il latte usato per produrlo. In secondo luogo, appare interessante l'analisi del contenuto di aminoacidi liberi per i formaggi derivati da latte misto; in questo caso, analizzando la presenza dei singoli aminoacidi in funzione delle diverse percentuali di latte ovino/bovino utilizzato nella loro produzione, si rileva una grande variabilità negli andamenti.



## Selezione Assistita da Marcatori Molecolari (MAS) di riproduttori appartenenti a linee suine

### Materiali e Metodi

Per la parte relativa alla MAS suina sono stati genotipizzati 503 individui figli di 14 verri di cui erano disponibili sia i dati fenotipici sia quelli genealogici.

La genotipizzazione è stata effettuata utilizzando 270 microsatelliti, selezionati dalla mappa genetica suina, in modo da coprire uniformemente i 18 autosomi e il cromosoma sessuale X.

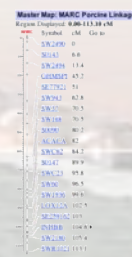
Sono stati sviluppati 23 pooling di microsatelliti per ogni individuo sfruttando le diverse dimensioni dei frammenti e i quattro diversi fluorofori disponibili per la marcatura degli oligonucleotidi utilizzati come innesco nella PCR.

L'analisi delle corse elettroforetiche al sequenziatore capillare è tuttora in fase di verifica in quanto si è dovuto provvedere all'editing manuale delle dimensioni dei frammenti non riuscendo ad ottenere risultati pienamente soddisfacenti dall'analisi automatica del software disponibile.

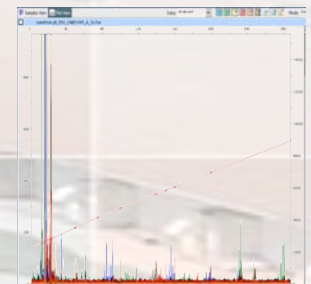


Analisi di immagine computerizzata per la misurazione di aree adipose in prosciutti crudi stagionati

Verro Goland C21 GORZAGRI



Mappa genetica del cromosoma 12 suino



Esempio di pooling di 14 marcatori microsatelliti.

### Risultati

La verifica dei risultati richiederà un lavoro aggiuntivo non preventivabile, ma consentirà di sviluppare una mappa genetica del genoma suino più completa e di poterla confrontare con quelle già disponibili in banca dati e di effettuare migliori analisi di associazione tra i marcatori microsatelliti ed i fenotipi in nostro possesso.