



## **Progetto TIPIBIO**

**Genotipi avicoli adatti all'allevamento biologico e  
filiera proteiche avicole biologiche integrate.**

**Convenzione CREA-MiPAAF del 20/12/2016**

**DM 95785 del 22/12/2016**

**RELAZIONE DI MONITORAGGIO**

**DELLE ATTIVITA' SVOLTE**

**AL 31/09/2019**

SCHEDA RIASSUNTIVA.....	4
OBIETTIVI .....	5
SINTESI DELLE ATTIVITÀ SVOLTE PER WORK PACKAGE.....	8
WP.1 Rafforzamento della filiera delle proteaginose ed integrazione con la filiera avicola .....	8
Task 1.1 Coltivazione delle materie prime biologiche per l'alimentazione del pollo da carne .....	8
1.1.1 Il protocollo sperimentale CREA ZA - Fileni .....	8
1.1.2 Sopralluogo ai terreni dell'azienda Agricola Fileni in convenzione.....	9
1.1.3 La coltivazione della soia biologica per l'alimentazione dei polli.....	11
1.1.4 L'utilizzo delle cover crops.....	21
1.1.5 La rotazione con il grano tenero.....	22
1.1.6 La coltivazione del pisello proteico .....	24
Task 1.2 Prova in allevamento commerciale di linee genetiche testate nel WP2.....	26
WP 2. Individuazione di genotipi adatti all'allevamento biologico .....	27
Task 2.1 Prova sperimentale sui sei genotipi.....	27
2.1.1 Animali e diete .....	29
Protocolli applicati dall'UO DSA3 .....	31
Protocolli applicati dal CREA-ZA.....	34
Risultati UO DSA3 .....	41
Risultati UO CREA-ZA .....	56
Task 2.2 Elaborazione degli indici di adattabilità .....	62
UO DSA3 - UNIPG.....	62
UO CREA-ZA.....	68
Task 2.3 Validazione degli indici.....	69
WP 3. Alternative alla soppressione dei pulcini maschi delle linee genetiche da uova.....	74
Task 3.1 Sperimentazione su linee genetiche a duplice attitudine .....	74

3.1.1 Allevamento maschi.....	75
3.1.2 Allevamento femmine .....	84
Task 3.2 Riconoscimento del sesso in Ovo .....	86
Il metodo SELEGGT .....	86
Spettroscopia a infrarossi RAMAN .....	87
WP4. Studio e analisi di nuovi alimenti proteici per l'avicoltura biologica .....	87
Incontri, seminari, convegni .....	90
Sostegno all'Ufficio PQAI I - MIPAAFT per l'applicazione della normativa e della sua evoluzione.....	93

## SCHEDA RIASSUNTIVA

Progetto: **Genotipi avicoli adatti all'allevamento biologico e filiere proteiche avicole biologiche integrate.**

Coordinatore: **Luca Buttazoni**

Data di avvio del progetto: **26 gennaio 2017**

Data di conclusione del progetto: **30 giugno 2020**

Partner istituzionali	Partner privati
DSA3- Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali dell'Università degli Studi di Perugia	Azienda Agricola Fileni, per la sperimentazione sulla coltivazione, trasformazione e utilizzo della soia coltivata in filiera e sperimentazione sulle linee genetiche per la validazione degli indici di adattamento.
	Azienda Amadori per la fornitura dei pulcini per l'allevamento sperimentale e la validazione degli indici di adattamento in allevamento commerciale.
	Azienda Agricola Di Filippo per la sperimentazione su una linea genetica a duplice attitudine.
	Aviagen Italia per la fornitura dei pulcini per la sperimentazione e a validazione dell'indice
	Hubbard Breeders per la fornitura dei pulcini per la sperimentazione

### Monitoraggio dell'attività di ricerca

Work Package	Task	Grado di realizzazione Task (%)	Grado di realizzazione WP (%)
--------------	------	------------------------------------	----------------------------------

WP1 - Rafforzamento della filiera delle proteaginose ed integrazione con la filiera avicola	1.1 Coltivazione delle materie prime biologiche per l'alimentazione del pollo da carne	98%	90%
	1.2 Prova in allevamento commerciale linee genetiche del WP2	10%	
WP2 - Individuazione di genotipi adatti all'allevamento biologico	2.1 Sperimentazione linee genetiche	100%	90%
	2.2 Individuazione indici di adattabilità	100%	
	2.3 Validazione indici di adattabilità	50%	
WP3 - Alternative alla soppressione dei pulcini maschi delle linee genetiche da uova.	3.1 Sperimentazione su linee genetiche a duplice attitudine	90%	95%
	3.2 - Riconoscimento sesso in ovo	100%	
WP 4. Studio di nuovi alimenti proteici per l'avicoltura biologica			100%

## OBIETTIVI

### WP1. Rafforzamento della filiera delle proteaginose ed integrazione con la filiera avicola

- espansione della produzione di materie prime per mangimi garanzia di prezzo e di raccolta del prodotto per gli agricoltori che entrano nella filiera;

- **materie prime proteiche di qualità scelte tra le varietà più adatte all'avicoltura, a basso contenuto di antinutrizionali;**
- **produzione di mangimi con un alta percentuale di materie prime locali o nazionali**
- **riqualificare di aree agricole con l'agricoltura biologica finalizzata alla filiera avicola;**
- **integrazione delle produzioni di materie prime per mangimi con l'allevamento avicolo;**

**rafforzamento del legame terra-animale;**

- **coinvolgimento attivo degli stakeholders nelle sperimentazioni**

## **WP 2. Individuazione di genotipi adatti all'allevamento biologico**

- **Individuazione di indici di valutazione per genotipi datti all'allevamento biologico;**
- **individuazione di genotipi che possono far parte della lista italiana di linee a lento accrescimento conformi al Regolamento 889/2008;**
- **rivalutazione delle razze avicole autoctone migliorate per un utilizzo commerciale**
- **valutazione di genotipi differenziati per strutture produttive**
- **coinvolgimento attivo di allevatori e associazioni nelle sperimentazioni**

## **WP 3. Alternative alla soppressione dei pulcini maschi delle linee genetiche da uova**

- **Individuazione di ibridi commerciali che possano essere allevati per la produzione di carne e di uova**
- **dati produttivi commerciali di linee avicole a duplice attitudine;**
- **individuazione di canali di vendita alternativi per la valorizzazione di questi prodotti**
- **stato dell'arte dei metodi di individuazione per il loro utilizzo in incubatoi commerciali**

#### **WP4. Studio e analisi di nuovi alimenti proteici per l'avicoltura biologica**

- Individuazione dei punti di forza e di debolezza per l'utilizzo di mangimi a base di insetti negli allevamenti biologici

## SINTESI DELLE ATTIVITÀ SVOLTE PER WORK PACKAGE

### WP.1 Rafforzamento della filiera delle proteaginose ed integrazione con la filiera avicola

#### Task 1.1 Coltivazione delle materie prime biologiche per l'alimentazione del pollo da carne

Il CREA ZA ha avviato una Convenzione con l'azienda FILENI produttrice, tra l'altro, di polli biologici per lo sviluppo delle seguenti attività:

- raccolta dati e monitoraggio tecnico economico della sperimentazione in campo per la produzione di materie prime proteiche biologiche,
- trasformazione in mangimi e allevamento avicolo;
- azioni di collegamento tra conduttori delle aziende del gruppo e il CREA-ZA;
- allevamento di polli da carne biologici di genotipi a lenta crescita che utilizzeranno le materie prime coltivate selezionate.

##### 1.1.1 Il protocollo sperimentale CREA ZA - Fileni

###### *1. Produzione materie prime per l'alimentazione dei polli biologici*

###### *Fase 1: acquisizione dati*

- A. Mappa geologica dei terreni coinvolti nella sperimentazione
- B. Descrizione dei terreni (ubicazione, coltura attuale, coltura precedente, lavorazioni, gestione)
- C. Caratteristiche chimiche (sostanza organica e inorganica)
- D. Caratteristiche fisiche suolo (profondità, tessitura, struttura, porosità, colore, temperatura) compattezza.
- E. Potenziale idrico
- F. Aree circostanti i terreni (altre coltivazioni, boschi, insediamenti umani, ecc.)

###### *Fase 2: pianificazione*

- A. Lavorazioni di sistemazione generali

- B. Aumento fertilità del suolo
- C. Rotazioni
- D. Visite formative presso aziende agricole che coltivano la soia biologica in modo innovativo

### Fase 3: coltivazione

- A. Scelta delle varietà
- B. Lavorazioni legate alla specifica coltura
- C. Raccolto
- D. Analisi delle materie prime: analisi centesimali ed eventuali approfondimenti analitici
- E. Analisi delle tecniche di trasformazione adatte alle varietà coltivate

#### **1.1.2 Sopralluogo ai terreni dell'azienda Agricola Fileni in convenzione.**

Il sopralluogo è stato effettuato a gennaio 2018 dai ricercatori del CREA-ZA con il Dott. Tramontano, referente scientifico della Convenzione tra il CREA-ZA e l'Azienda Agricola Fileni e i tecnici responsabili della gestione dei terreni.

L'agricoltura biologica si deve basare su principi estremamente conservativi per l'ambiente, il suolo ed i suoi strati dovrebbero essere lavorati il meno possibile, l'aratura deve essere superficiale perché non deve in nessun modo favorire la mineralizzazione della sostanza organica presente nel terreno, si deve tenere in considerazione la coltivazione di colture da sovescio per migliorare la SO e la struttura del terreno, utilizzare metodi di arieggiamento e lavorare il terreno solo quando è in tempera.

In generale i terreni messi a disposizione da Fileni per la sperimentazione sono molto calcarei e tendenti all'alcalino, presentano una struttura prevalente limoso-argillosa con una scarsa quantità di sostanza organica, queste condizioni indicano dei terreni pesanti, con basso contenuto di humus con una finestra temporale per le lavorazioni molto stretta. Le lavorazioni possono peggiorare la struttura del terreno compattandolo, e diminuendone la fertilità. La SO sia in concimazione che da sovescio migliora la struttura e la fertilità del terreno ma va interrata superficialmente in uno strato di terreno più attivo. L'aratura superficiale consente di concentrare la mineralizzazione della SO delle concimazioni e dei sovesci nello strato di terreno utilizzato dalle piante. In questi terreni non sono state programmate colture da sovescio, il concime previsto è funzionale alle colture e non ci sono interventi in atto per il miglioramento della SO. Alla fine del ciclo colturale previsto sarà necessario prevedere una gestione diversa di tipo conservativo volta al miglioramento della SO.

Altri terreni invece hanno una struttura limo argillosa tendente al franco per la percentuale di sabbia, con una buona dotazione di SO e non presentano problemi strutturali.

Nei terreni destinati alla coltivazione della soia biologica, prima della semina, sarà necessario attuare una serie di lavorazioni atte ad indebolire le infestanti, tuttavia affinché il risultato di ripulitura del terreno sia efficace, prima della soia si devono prevedere colture che in epoca di emergenza delle infestanti abbiano già coperto il terreno (orzo, grano ecc). Inoltre dopo la raccolta della coltura, si deve impedire che le eventuali infestanti che si presentano in seguito vadano a seme. Per le infestanti rizomatiche, le cover crop e le colture in competizioni sono la migliore soluzione.

A gennaio è stato seminato del pisello proteico (l'azione era stata decisa prima dell'avvio della Convenzione tra CREA e Fileni). Vi sono in letteratura delle prove sperimentali che indicano che le semine eseguite nei mesi di novembre e dicembre consentono livelli produttivi mediamente superiori alle semine di febbraio (anche il 30% superiore) e percentuali proteiche mediamente più alte di circa 2 punti percentuali. La semina primaverile (a marzo) risulta più problematica nel controllo delle infestanti e meno produttiva. Anni di sperimentazione hanno portato alle conclusioni che i risultati migliori in termini di controllo delle infestanti si ottengono con le semine autunno-invernali, da collocarsi preferibilmente a novembre-dicembre. Qualora sia impossibile seminare in questa epoca è necessario seminare entro febbraio. La semina primaverile è sconsigliata perché il ciclo del pisello proteico coincide con quello delle infestanti.

Le lavorazioni per il controllo meccanico delle infestanti, oltre alla falsa semina, sono operazioni di strigliatura da effettuarsi fino a quando la coltura ha raggiunto l'altezza di 7-10 cm e non oltre per non causare danni alle piante.

A seguito della raccolta della granella, sarà necessario prevedere operazioni atte al contenimento delle infestanti.

Uno dei campi è stato destinato alla produzione di mais (azione decisa prima dell'avvio della convenzione). Il campo 12 ha una struttura ottima, un buon equilibrio, neutro, non calcareo ed un'ottima dotazione di SO. Il problema più grosso di questo campo è l'evidente infestazione di varie piante comprese le rizomatose, le lavorazioni successive al raccolto hanno probabilmente peggiorato la situazione. In questo campo è prevista una coltura di mais da granella, coltura molto difficile in agricoltura biologica, oltre alle infestanti è una pianta che risente dell'umidità, presenta diversi patogeni.

Il campo non ha avuto una copertura del suolo con una cover crop (ad. es. veccia) che avrebbe apportato un buon contenuto di azoto con il sovescio (il mais è una coltura che asporta molto azoto). Un intervento di falsa semina risulta quindi necessario. Le lavorazioni successive per il contenimento delle infestanti potrebbero non essere sufficienti nei confronti della vegetazione spontanea.

### **1.1.3 La coltivazione della soia biologica per l'alimentazione dei polli**

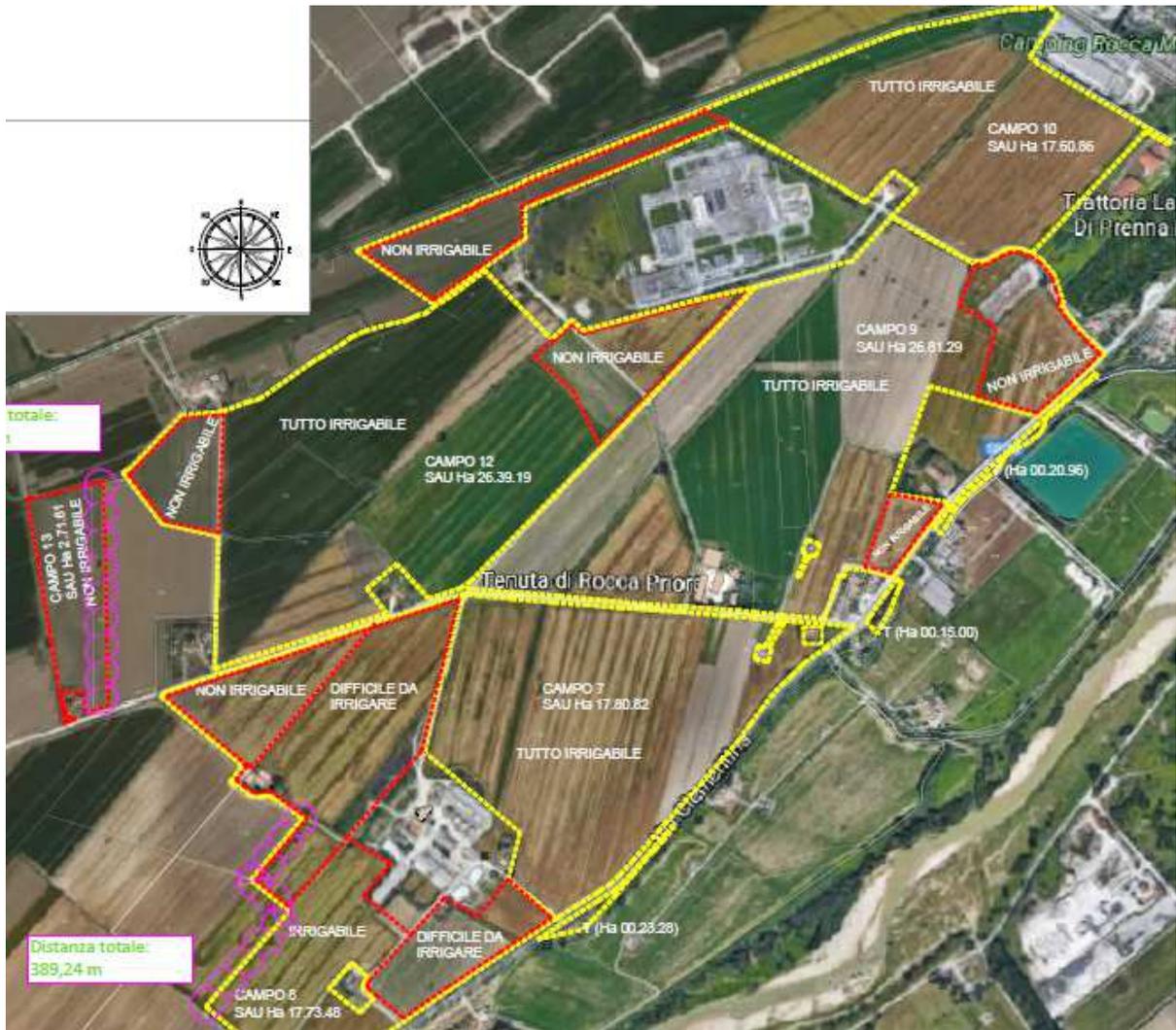
#### **Annata 2017-2018**

Il sito oggetto d'interesse è localizzato nel comune di Falconara Marittima (campo 7) con superficie di 7,2 ettari impiegati per la soia oggetto di sperimentazione.

#### **Scelta delle varietà:**

Sono state scelte due varietà della SIPCAM: NAV802 e EM 508 (quest'ultima attualmente all'ultimo anno di registrazione, appartiene alla stessa famiglia della NAV802 per quanto riguarda le caratteristiche qualitative (Proteine, fattori antinutrizionali, resistenza ai nematodi). Quantità di seme: 44 piante/mq-sesto impianto 4.5 \*50cm

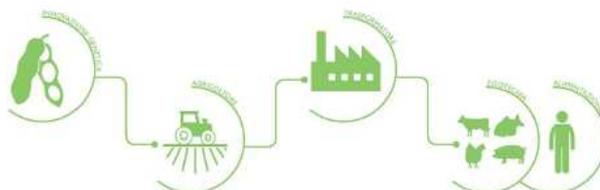
La NAV varietà registrata è stata seminata su 5,7 ha e la EM su una parcella sperimentale di 1,5 ha.



## La varietà di soia innovativa di Sipcarn Italia

NAV<sup>®</sup>802 è la nuova varietà di Sipcarn Italia presto disponibile sul mercato, caratterizzata da un alto contenuto in **proteina** della granella (mediamente 10% superiore rispetto alla media di campo nelle prove 2015-2017) e da un basso contenuto di **stachiosio e raffiniosio** (oligosaccaridi non termolabili) causa di fermentazioni e riduzione della digeribilità nell'alimentazione zootecnica.

### LA VARIETÀ PENSATA PER LE FILIERE



Le importanti caratteristiche qualitative rendono NAV<sup>®</sup>802 la varietà ideale per le filiere che ricercano nel mercato della granella di soia caratteristiche nutrizionali ben precise per soddisfare le esigenze specifiche legate alle diverse destinazioni d'uso.

### CARATTERISTICHE AGRONOMICHE UNICHE

NAV<sup>®</sup>802 è una varietà a ciclo medio, costituita da una pianta di taglia media con ottimo vigore iniziale e rapido sviluppo vegetativo. Grazie alla rapida defogliazione in fase di maturazione, NAV<sup>®</sup>802 è adatta anche per semine ritardate o per secondi raccolti anticipati.

Ottima adattabilità agronomica nelle zone più importanti della coltivazione della soia. Se coltivata nei terreni più fertili può esaltare al massimo sia il **potenziale produttivo** che quello **qualitativo**.

# NAV802

### LE CARATTERISTICHE PRINCIPALI

- Elevato vigore di partenza
- Ideale per tutti i tipi di ambienti
- Resistenza ai Nematodi (SCN)
- Alto contenuto in proteine
- Bassi fattori anti-nutrizionali non termolabili



**EPOCA DI SEMINA:** I<sup>a</sup> semina, I<sup>a</sup> semina ritardata, II<sup>a</sup> semina anticipata

**GRUPPO MATURITA':** 1

**INVESTIMENTO PIANTE/m<sup>2</sup>:** 42/44

La linea NAV<sup>®</sup> rappresenta la nuova frontiera della soia di qualità. Unisce un alto contenuto in proteine ad un basso contenuto in fattori anti-nutrizionali non termolabili (Stachiosio e Raffinosio). Queste caratteristiche permettono di ottenere prodotti trasformati con un'elevata concentrazione di proteine altamente assimilabili anche nelle filiere "hexane free" o biologico.

### ***Preparazione del terreno destinato alla produzione di granella di soia e interventi successivi.***

La germinazione della soia e l'intero processo vegetativo richiedono un equilibrato rapporto fra acqua e aria, la possibilità che l'acqua circoli con facilità nel terreno, è molto importante. Un'efficace preparazione del letto di semina consente di ottenere una buona struttura del terreno, che garantisca un equilibrato rapporto fra micro e macro pori, l'unico stato fisico del suolo che consenta ad aria e acqua di circolare liberamente.

L'emergenza delle piantine è inoltre ostacolata dalla formazione della crosta superficiale. La crosta superficiale si forma quando, in terreni ricchi di limo e argilla, come quelli destinati alla produzione di soia, la lavorazione produce terra fine nella fase di preparazione del letto di semina e si manifesta un andamento meteorologico secco. Ciò provoca un indurimento di uno strato di terreno che può rappresentare un serio ostacolo all'emergenza della coltura. Sia per evitare la formazione della crosta superficiale che per garantire un equilibrato rapporto fra micro e macropori (la condizione ideale si raggiunge intorno al 50%) è necessario ridurre l'intensità delle lavorazioni di preparazione del letto di semina. A metà aprile è stato preparato il terreno per la falsa semina, la data è stata scelta tenendo conto che è necessario aspettare 2-3 settimane dall'irrigazione sul letto di semina prima di seminare la soia, infatti bisogna dar tempo alle infestanti di germinare ed emergere per poi eliminarle.

### **20 Aprile 2018 - Falsa semina**



La semina della soia va fatta quando le temperature del terreno stanno a 13° o oltre altrimenti il seme non germina. E' preferibile utilizzare una seminatrice di precisione che effettua una distribuzione di singoli semi a intervalli rigorosamente uniformi lungo file parallele e quindi semplifica tutte le operazioni successive e fa risparmiare il seme. Nei terreni limo-argillosi la profondità del seme deve essere a 2,5-3 cm, la distanza tra le file, minima a 50 cm. In questo modo aumenta la competizione della soia nei confronti delle erbe infestanti sulla fila dove non possiamo intervenire con mezzi meccanici. Tra le file bisognerà comunque essere pronti per intervenire con una o più sarchiature e se c'è più spazio si interviene con più facilità. L'8 maggio 2018 sono state estirpate le infestanti con un coltivatore "Germinator" e preparato il letto di semina.

### **Maggio 2018. Preparazione del letto di semina**



Il 10 maggio sono state seminate due varietà di soia SIPCAM; la varietà NAV802, gruppo 1 medio, altissime proteine-bassi antinutrizionali (Stechioso e Raffinosio) e la varietà in corso di registrazione EM 508, gruppo 1 medio- tardivo, altissime proteine-bassi antinutrizionali (SR), ottimo PDI.

#### **10 Maggio 2018. Semina della soia**



Successivamente è stata fatta una rullatura.

#### **7 giugno 2018. Infestanti sul campo di soia**



**Evoluzione della crescita**



**NAV 802**



**EM 508**

**28 giugno 2018**

Inizio fioritura (violaceo in Nav e bianca in Em); presenza di diversi fiori su diversi nodi della pianta; leggera eterogeneità di sviluppo vegetativo con leggera sofferenza della pianta in alcuni punti della prova; infestanti costituite da portulaccee, graminacee, amaranto e girasole selvatico sulla fila in una percentuale del 20% su tutta la popolazione

## 28 luglio 2018

Baccelli abbozzati o formati per il 80 % della popolazione della varietà NAV e 40% della varietà EM; entrambe le varietà presentano buona omogeneità di sviluppo vegetativo, ottimo vigore, ma disomogeneità riproduttiva consistente; varietà EM con il 30% di infestanti(graminacee); varietà NAV con il 50% di infestanti dovuto a abutilon teophrasti, portulacace, amaranto e graminacee; In questa data è stato effettuato un intervento di irrigazione.



EM 508  
numero di infestanti

NAV 802 si nota la minore copertura e un maggior

## 18 agosto 2018

Baccelli ingrossati lunghi 5-6 cm su tutti i palchi; ingrossamento semen NAV 90 cm e nav 110 cm entrambe le varietà presentano buona omogeneità di sviluppo vegetativo, ottimo vigore, ma disomogeneità riproduttiva ; varietà EM con il 30% di infestanti(graminacee); varietà NAV con il 60% di infestanti dovuto a abutilon teophrasti, portulacace, amaranto e graminacee;

## 30 agosto 2018

Seme completamente ingrossato e inizio maturazione nel 20% popolazione in NAV e 10% varietà EME; entrambe le varietà presentano buona omogeneità di sviluppo vegetativo, ottimo vigore, ma leggera disomogeneità riproduttiva ; varietà EM con il 30% di infestanti(graminacee); varietà NAV con il 70% di infestanti dovuto a abutilon teophrasti, portulacace, amaranto e graminacee;

## 28 Settembre 2018. Trebbiatura della soia



La resa è stata di 22 q.li/ha per la NAV 802 e 27 q.li/ha per la sperimentale EM 508.

**Analisi di campioni di NAV 508 e EM 802 coltivati nella campagna 2018 (Falconara campo 7) espressi in g/100 gr di SS**

<b>Analisi centesimali</b>	<b>EM 508</b>	<b>NAV 802</b>
Sostanza secca	90,3	90,9
Lipidi	12,7	11,6
Carboidrati	21,0	24,6
<b>Proteine</b>	<b>46,7</b>	<b>44,3</b>
Fibra	13,2	13,4
Ceneri	6,4	6,1

<b>Aminoacidi solforati</b>	<b>EM 508</b>	<b>NAV 802</b>
Metionina	0,460	0,449
Cisteina	0,545	0,576

<b>Oligosaccaridi sul tal quale</b>	<b>EM 508</b>	<b>NAV 802</b>
Raffinosio	0,07	0,088
Stachiosio	0,3	0,5

Gli oligosaccaridi sono ultrabassi (geneticamente)

<b>Rese per ettaro di soia e di proteina:</b>	<b>q.li/ha tal quale</b>	<b>q.li/ha SS</b>	<b>q.li/ha proteina</b>
<b>EM 508</b>	27	24,38	<b>11,38</b>
<b>NAV 802</b>	22	19,99	8,85

Conto economico soia

PLV		ton	Superficie (ha)	Prezzo Vendita	resa ha	euro
resa		168		62	23,0	10416
pac		336,35	7,5			2522,625
psr		220	7,5			1650
<b>PLV(COMPRESO PAC)</b>						<b>14588,625</b>
Operazioni colturali		Costo (€/ha)	Superficie (ha)	Costo totale (€)	Sconto	Costo effettivo (€)
ARATURA		167	7,5	1252,5	20%	1002
ESTIRPATURA		97	7,5	727,5	20%	582
CONCIMAZIONE (AGRICARS 813)		34	7,5	255	20%	204
ERPICATURA CON ERPICE A MOLLE		55	7,5	412,5	20%	330
RIPASSO CON PREPARATORE		55	7,5	412,5	20%	330
SEMINA		60	7,5	450	20%	360
RULLATURA		40	7,5	300	20%	240
SARCHIATURA		85	7,5	637,5	20%	510
2° SARCHIATURA		85	7,5	637,5	20%	510
IRRIGAZIONE		95	7,5	712,5	20%	570
RACCOLTA (€/ton)		91	7,5	1563,38	20%	1250,704
<b>TOTALE</b>		<b>864</b>		<b>7360,88</b>		<b>5888,704</b>
Fattori produttivi			Quantità	Superficie (ha)	Prezzo unitario	Costo effettivo (€)
Inoculo		nr	26	7,5	2,5	65
Seme NAV		nr	19	6	44	836
Seme EM		nr	7	1,5	0	0
Concime (AGRICARS 813)		kg	4500	7,5	0,355	1597,5
<b>TOTALE</b>						<b>2498,5</b>
<b>COSTI TOTALI</b>						<b>8387,204</b>
						14588,625
<b>MOL (Margine Operativo Lordo)</b>						<b>6201,421</b>

**Annata 2017-2018**

### 1.1.4 L'utilizzo delle cover crops

Una cover crop è stata sperimentata su 6 ettari di superficie nel comune di Falconara Marittima al fine di avere la copertura del terreno in tutto il periodo dell'anno. La cover crop, un miscuglio costituito da vecchia villosa (50 kg/ha) + segale da sovescio (150 kg/ha), è stata seminata ad ottobre prima della futura coltivazione di soia.



### Operazioni effettuate e Conto economico Cover crop

Località	Data	Operazioni colturali	Costo (€/ha)	Superficie (ha)	Costo totale (€)	Sconto (%)	Costo effettivo (€)
Falconara (Campo 8)	27/08 - 08/09/18	Ripuntatura	145	6,04	875,80	20%	700,64
	22/10/2018	Coltivatore -Erpice rotante	110	6,04	664,40	20%	531,52
	24/10/2018	Semina	53	6,04	320,12	20%	256,096
	26/10/2018	Rullatura	40	6,04	241,60	20%	193,28
	23/10/2018	Seme Vecchia Villos (50kg)	105	6,04	634,20	8%	583,464
	23/10/2018	Seme Segale (150kg)	108	6,04	652,32	8%	600,1344
	16/04/2019	Trinciatura	86	6,04	519,44	20%	415,552
	18/04/2019	Ripuntatura	145	6,04	875,80	20%	700,64
	19/04/2019	Erpice rotante	110	6,04	664,40	20%	531,52
<b>TOTALE</b>			<b>647</b>		<b>3388,44</b>		<b>2865,1344</b>

### 1.1.5 La rotazione con il grano tenero

Il grano tenero è una materia prima utilizzata nell'alimentazione dei polli biologici, per questo motivo la scelta varietale ha privilegiato alcune caratteristiche come il peso dei semi e la quantità di proteina.

Il sito oggetto d'interesse è localizzato nel comune di Falconara Marittima (campo 12) con superficie totale di 27 ettari impiegati per la coltivazione del grano tenero oggetto di sperimentazione. Il campo utilizzato è pianeggiante e di tessitura equilibrata tra sabbia e limo (franco).



**GRANO TENERO**

**PROVE REGISTRO BIENNIO**

**124%**

MEDIA medio produttivo su testatori 2015-2016 e 2016-2017

**NOTE DEL COSTITUTORE**

BANDERA è un grano molto precoce ma grano alla fertilità della spiga e al peso dei chicchi, è tra i grani teneri più produttivi in Italia. BANDERA è un grano di qualità PANIFICABILE.

[www.ragt-sementi.it](http://www.ragt-sementi.it)

RAGT Sementi S.p.A. • P.zza Toschi 7 • 44020 Marone (FE)  
 P. IVA: 01480940368 • [contatti@ragt-sementi.it](mailto:contatti@ragt-sementi.it)  
 Tel. 0532 814233 • Fax 0532 814755

**RGT BANDERA**

**Il tuo asso vincente!**

**CARATTERISTICHE AGRONOMICHE**

Alternatività	Inverno-primaverile
Spigatura precoce	precoce
Tipo	artistato
Chloroturon	medio tollerante
Freddo	ottima tolleranza
Altezza	medio basso
Allettamento	poco sensibile
Accostamento	medio elevato-elevato

**PROFILO MALATTIE**

Ruggine bruna	medio-poco sensibile
Oidio	medio-poco sensibile
Septoria	medio-medio sensibile
Ruggine gialla	poco sensibile
Virus mosaico	/
Fusarium	medio-sensibile

**VALORE AGRONOMICO**

PMS	medio elevato-elevato
Peso Specifico	buono
Proteine	buono
Classe qualità	PANIFICABILE
W	nella media dei panificabili
FA	medio

**CONSIGLI CULTURALI**

BANDERA ha un'ottima resistenza all'allettamento. BANDERA si adatta molto bene a tutti i tipi di terreno. Si può seminare da fine ottobre a primavera.

**GRANO TENERO**

**RGT MONTECARLO**

Medio-precoco  
Frumento PANIFICABILE SUPERIORE  
iscritto in Italia e Francia 2016  
Costitutore RAGT 2n  
Rappresentante RAGT Italia S.r.l.

**RISULTATI PROVE UFFICIALI**

**115%**

Valore produttivo rispetto al testatore  
bandiera di riferimento (area 16) (Italia)  
Targira Sabina, Biancamano, NE, Paves  
Lodigiana

**NOTE DEL COSTITUTTORE**

RGT MONTECARLO è un grano di qualità panificabile superiore, con un elevato potenziale produttivo e un buon profilo fitosanitario. La buona estensibilità e il tenace processo medicinale devono rendere RGT MONTECARLO adatto a tutti gli utilizzi.

[www.ragt-sementi.it](http://www.ragt-sementi.it)  
RAGT ITALIA S.R.L. - P.zza Testa 7 - 40026 Monterotondo (MI)  
P.IVA 01480640368 - CONTACT@ragt-sementi.it  
TEL. 0438 933281/83333 - Fax 0438 933281/83333

**Vincente nella resa e qualità!**

**CARATTERISTICHE AGRONOMICHE**

Alternatività	semi-alternativo
Spigatura - precocità	medio-precoco
Tipo	aristato
Freddo	buona tolleranza
Altezza	media (1,4 m su Adaseni)
Allettamento	resistente
Accostimento	elevato
Chloroturon	tollerante

**PROFILO MALATTIE**

Ruggine bruna	poco sensibile
Oidio	poco sensibile
Sporimia	medio-poco sensibile
Ruggine gialla	poco sensibile
Virusi (mosaico)	resistente
Rusarum della spiga	poco sensibile
Cecidomia	resistente
Mai del piede	tollerante (genio PCH1)

**PROFILO QUALITA'**

PMS	medio-elevato
Peso Specifico	medio-elevato
Proteine	medio-elevato
Stabilità Farinografica	elevata (senza a 100 mg/100g)
Classe qualità	Frumento PANIFICABILE SUPERIORE
W	buono (oltre 220)
PIL	medio (tra 4 e 8 mg/kg)

**CONSIGLI CULTURALI**

RGT MONTECARLO si adatta molto bene a essere coltivato in tutto il Nord e Centro Italia, unico l'elevato indice di accostimento al peso specifico elevato, a cui si aggiunge l'ottima valorizzazione dell'azoto per accumulare proteine. L'epoca ottimale di semina va da metà ottobre fino a inizio dicembre. Dato che RGT MONTECARLO è tollerante al mal del piede, si adatta meglio di molte altre varietà ai rangrati, alle semine su sodo e nelle coltivazioni in "bi".

Sono stati coltivati 13,5 di Grano tenero Bandera e 13,5 ha di grano tenero Montecarlo con una densità di semina pari a 220 kg/ha.

Dopo una concimazione, un'ercpicatura e un passaggio con un preparatore del letto di semina, il 16 novembre 2018 è stata effettuata la semina con seminatrice pneumatica con densità di 44 piante m2 per un sesto di impianto pari a 4,5x50 cm. Il controllo delle infestanti è avvenuto con diserbo meccanico. Lo sviluppo delle erbe infestanti e gli attacchi parassitari vengono segnalati sulle schede di rilevamento agro-fenologico nel caso in cui costituiscano uno stress biotico in grado di influire sullo sviluppo delle colture.

RGT Montecarlo 11,65 ha Bandera ha 11,65	Operazioni colturali
25/09/2018	Ripuntatura
02/10/2018	Ercpicatura con rotante
07-09/11/2018	Concimazione
15/11/2018	Ercpicatura

16/11/2018	Semina
17/11/2018	Rullatura e scoline
22/02/2019	Strigliatura
04/03/2019	Concime
05/03/2019	Strigliatura

La trebbiatura è avvenuta il 26/06/2019 per la varietà Bandera e il 07/07/2019 per la Montecarlo.

La resa del grano tenero varietà Bandera è stata pari a 27,51 q.li/ha, quella della varietà Montecarlo pari 32,17 q.li/ha. La resa media delle varietà di grano tenero più produttive coltivate in agricoltura biologica, secondo uno studio del CREA del 2018, è intorno al 4,5-4,8 q.li /ha. L'annata 2019 purtroppo ha risentito del clima totalmente sfavorevole delle prolungate piogge nel mese di maggio e delle altissime temperature del mese di giugno.

### **1.1.6 La coltivazione del pisello proteico**

Il pisello proteico è una pianta ottima in rotazione con il frumento in quanto libera presto il terreno, lo lascia assai rinettato dalle malerbe e lascia un buon residuo di azoto, stimabile dell'ordine di 40-60 Kg/ha. Esso è quindi coltivabile tra due cereali autunnali.

Il pisello proteico rientra tra le materie prime proteiche utilizzate nell'alimentazione dei polli. In tale senso è stata scelta una varietà con delle buone caratteristiche nutritive, precoce e resistente al freddo.

Il sito oggetto d'interesse è localizzato nel comune di Falconara Marittima (campo 14) con superficie totale di circa 12,8 ettari impiegati per la coltivazione del pisello proteico oggetto di sperimentazione. Il campo è pianeggiante a carattere limoso-argilloso. La varietà scelta è la Mowgli della RAGT-Sementi.

**PISELLO PROTEICO**



Seme giallo  
Iscritta sul catalogo UE nel 2012 (SR426831)  
Costitutore RAGT Zn  
Rappresentante RAGT Italia



**NOTE DEL COSTITUTORE**

MOWGLI è una nuova varietà afila, di ciclo precoce, con potenziale produttivo elevatissimo. Pianta di taglia alta, ma inallettabile.  
MOWGLI vanta un PMS elevato.  
MOWGLI ha una bassa ramificazione (simile ad HARDY), che facilita la raccolta senza perdite di prodotto in campo.

# RGT MOWGLI

**Scopri un prodotto unico!**

**CARATTERISTICHE AGRONOMICHE**

Tipo	<b>afila</b>
Precocità a maturazione	<b>precoce</b>
Altezza a fine fioritura	<b>medio elevata-elevata</b>
Altezza alla raccolta	<b>medio-elevata</b>
Allettamento a maturità	<b>ottima resistenza</b>
Colore seme	<b>giallo</b>
Stelo-ramificazione	<b>bassa</b>
Clorosi ferrica	<b>tolerante</b>

**PROFILO MALATTIE**

Ascochyta pisi	<b>resistente</b>
Oldio	<b>medio-sensibile</b>
Fusarium oxysporum	<b>resistente</b>

**PROFILO QUALITA'**

PMS	<b>elevato</b> (sca 280 g)
Proteine	<b>elevato</b> (41-27%)

Fonte CIPR, ARVALIS - Istituto Vegetale (1) - varietale, 1 - varietale

**CONSIGLI CULTURALI**

MOWGLI è di tipo invernoprivaerile e può essere seminato da metà fine novembre fino a febbraio.  
Densità di semina consigliata (a seconda dei terreni e dell'epoca di semina) tra 85/120 s./mq.

La semina (250 kg/ha) è stata effettuata il 17 novembre dopo ripuntatura a settembre, una estirpatura ad ottobre, una seconda ripuntatura sempre ad ottobre e infine la concimazione a novembre.

PISELLO  Mowgli  Ha 12.8	Operazioni colturali
Dal 27/08 al 08/09/2018	Ripuntatura
25/10/2018	Estirpatura
07/11/2018	Concimazione
10/11/2018	Epicatura
17/11/2018	Semina
18/11/2018	Rullatura e scoline
Dal 19 al 20/06/2019	Trebbiatura

La resa del pisello proteico Mowgli è stata di 38,48 q.li/ha, la resa media del pisello proteico coltivato in agricoltura convenzionale oscilla intorno ai 40 q.li/ha.

### **Task 1.2 Prova in allevamento commerciale di linee genetiche testate nel WP2**

Quando i risultati delle analisi sugli animali allevati nelle prove sperimentali sono stati elaborati sono state fatte delle prove in allevamenti commerciali. Per quanto riguarda la convenzione con Fileni è stato deciso di testare le linee genetiche più produttive tra le 6 testate nella sperimentazione del WP2. Sono state scelte tre linee genetiche:

- 1) Ranger Gold Aviagen perché rappresentava un buon compromesso tra produttività e capacità di adattarsi all'ambiente biologico
- 2) CY e M di Hubbard. I risultati sul movimento siano risultati non sono stati soddisfacenti nonostante quelli risultati qualitativi fossero ottimi e il petto non manifestasse i difetti tipici delle linee a rapido accrescimento. Si è deciso quindi di vedere come si fossero comportati in un allevamento commerciale con una dieta adeguata alle loro esigenze.

Purtroppo, nonostante l'intervento del Direttore Commerciale di Hubbard France sul mercato non è stato possibile reperire sul mercato i pulcini delle due linee genetiche Hubbard, pertanto l'unica linea genetica che verrà allevata presso l'allevamento biologico Fileni sarà la Ranger Gold di Aviagen che verrà accasata il 27 Settembre 2019 e macellata 81 giorni dopo.

## WP 2. Individuazione di genotipi adatti all'allevamento biologico

L'obiettivo del WP2 è fornire al Ministero uno strumento applicabile a livello legislativo. In futuro, i genotipi utilizzati in agricoltura biologica, che non fanno parte di quelli testati in questo progetto, dovranno "passare" il test dei criteri, altrimenti verranno identificati come intensivi. Questo significa che i produttori delle linee genetiche dovranno semplicemente dimostrare di possedere i requisiti per poter essere definiti a lento accrescimento secondo le norme del Regolamento CE 889/2008.

### Task 2.1 Prova sperimentale sui sei genotipi

A seguito degli incontri con gli allevatori, i produttori di genetica avicola e l'UO DSA3, si è deciso di allevare 6 genotipi a medio/lento accrescimento, tre della Aviagen e tre della Hubbard. Alcuni di questi genotipi sono già utilizzati in produzioni convenzionali, ma non hanno una connotazione ufficiale come lento accrescimento pur mostrando caratteristiche preliminari soddisfacenti. Sono stati fatti due incontri, con il responsabile di Aviagen Italia e con il Direttore commerciale di Hubbard ed entrambe le Compagnie hanno mostrato un grande interesse a collaborare al progetto fornendo inoltre gli animali per la sperimentazione.

Gli animali scelti per la prova sperimentale sono

#### Genotipi Aviagen:

Ranger Classic medio-rapido accrescimento; Ranger Gold medio accrescimento; Rowan Ranger lento accrescimento.

#### Genotipi Hubbard:

M (M22xJa87) medio-rapido accrescimento; C (CYxJA87) medio accrescimento; Campese (RedbroxJA57) lento accrescimento.

In allegato le schede fornite da Aviagen e da Hubbard con le caratteristiche di linea.

**Aviagen Ranger Classic**



**Aviagen Ranger Gold**



**Aviagen Rowan Ranger**



**Campese**



**Hubbard CY**



**Hubbard M**



### **2.1.1 Animali e diete**

Per la prova sperimentale sono stati utilizzati 1500 pulcini maschi di 1 giorno di età di 6 diversi genotipi (250 animali/genotipo). In allegato le schede dei produttori per ciascuna linea.

Dalla schiusa a 25 giorni di età sono stati mantenuti in ambiente termicamente controllato con temperatura e umidità relativa oscillante tra i 32 e 30°C e tra 65 e 70%, rispettivamente. Tutti i pulcini sono stati vaccinati contro la Marek, la Pseudopeste e la bronchite.

A 26 giorni di età sono stati trasferiti in un ricovero con lettiera (0,10 m<sup>2</sup>/pollo), attrezzato con alimentatori e abbeveratoi e libero accesso ad un parchetto esterno (4 m<sup>2</sup>/pollo). Perpendicolarmente a ogni ricovero sono stati allestiti dei parchetti di esclusione per la raccolta dell'erba e la stima dell'ingestione di pascolo come descritto da Rivera-Ferre et al. (2007).

La dieta è stata studiata appositamente per rispondere a tutti le esigenze nutrizionali delle varie fasi di crescita e formulata con ingredienti biologici, tuttavia per poter utilizzare la stessa dieta per tutte le linee , essendo i fabbisogni alimentari diversi per ciascuna linea, sono stati i fatti alcuni compromessi sulle esigenze nutritive di cercando di non sottoalimentare le linee più produttive.

Sono stati forniti 3 mangimi rispondenti ai tre periodi alimentari:

- svezzamento (1 a 25 giorni)
- accrescimento (26 a 60 giorni)
- finissaggio (61 a 81 giorni).

Gli ingredienti e la composizione chimica sono riportati in Tabella 1.

**Tabella 1.** Ingredienti (%) e composizione chimica delle tre diete sperimentali

	Svezzamento	Accrescimento	Finissaggio
<b><i>Ingredienti (%)</i></b>			
<b>Mais</b>	53,92	55,95	53,11
<b>Farina soia estr.48%</b>	30,23	24,67	15,69
<b>Farina mais estruso</b>	5,08	8,90	11,45
<b>Frumento tenero</b>	5,00	5,00	15,00
<b>Fosfato bicalcico</b>	1,71	1,58	1,21
<b>Calcio carbonato</b>	1,23	1,16	1,29
<b>Mais glutine 70</b>	1,00	1,00	
<b>Olio di soia</b>	0,62	0,54	1,15
<b>Integratore vitaminico</b>	0,40	0,40	0,40
<b>sale</b>	0,20	0,18	0,23
<b>Integratore minerale</b>	0,16	0,16	0,11
<b>Sodio bicarbonato</b>	0,15	0,15	0,15
<b><i>Composizione chimica (% s.s.)</i></b>			

<b>Umidità</b>	%	12,20	12,11	12,00
<b>Proteina grezza</b>	%	24,01	22,16	18,41
<b>Lipidi</b>	%	3,99	3,98	4,55
<b>Fibra grezza</b>	%	3,48	3,58	3,60
<b>Ceneri</b>	%	6,92	6,43	5,78
<b>Energia metabolizzabile</b>	kcal/kg	3245,20	3242,64	3295,94
<b>VIT A</b>	U.I.	11385,93	11377,59	11364,80
<b>VIT E</b>	Mg	36,43	36,41	36,37

Durante tutto il ciclo produttivo in campo (26-81 giorni) sono stati registrate settimanalmente il consumo di alimento e l'accrescimento ponderale, al fine di valutare l'efficienza e l'indice di conversione alimentare. Inoltre, la mortalità è stata registrata giornalmente. Gli animali dopo l'accasamento nei parchetti all'aperto (periodo post-svezzamento) sono stati chiusi nei ricoveri forniti di lampade per favorire l'adattamento ed evitare sbalzi termici. L'alimento e l'acqua sono stati forniti *ad libitum*. Dal 35 giorno hanno avuto libero accesso al parchetto esterno durante le ore diurne, mentre i ricoveri sono stati chiusi nelle ore notturne.

### ***Protocolli applicati dall'UO DSA3***

#### ***Valutazione del comportamento e del benessere animale***

Il giorno in cui è stato permesso ai polli di esplorare il parchetto esterno (35 giorni), sono stati effettuati i rilievi dell'interesse iniziale nell'esplorazione ed è stata stimata la distanza percorsa tramite SCAN SAMPLING METHOD, che consiste nel registrare il numero di animali che escono dal ricovero nei primi 5 minuti successivi l'apertura della porta. Inoltre, è stata valutata la distanza di allontanamento dal ricovero.

La settimana precedente alla macellazione sono state eseguite le osservazioni comportamentali su un gruppo numeroso di animali (>50 individui/genotipo) tramite sistema di analisi computerizzato (NOLDUS®) e

contemporaneamente sono state eseguite le osservazioni sul singolo individuo tramite SCAN SAMPLING (30 polli/genotipo).

Per la valutazione del benessere è stato eseguito il test di valutazione del piumaggio e della tonic immobility.

### ***Valutazione dello stato fisiologico e immunitario in vivo***

Il giorno della macellazione sono stati effettuati i prelievi ematici su 10 animali/genotipo. Il sangue (circa 5 mL) è stato prelevato dalla vena alare e stoccato in provette contenente Na<sub>2</sub>EDTA (per il plasma) e vuote (per il siero), per le valutazioni immunologiche e dello stato ossidativo.

I parametri oggetti di studio sono stati il rapporto eterofili/linfociti in quanto marker di stress negli avicoli; la formula leucocitaria determinata in accordo con Bertoni e coll. (2000); l'aptoglobina determinata con un Kit enzimatico (Phase TM Aptoglobina, CELBIO srl, Milano); l' $\alpha$ -tocoferolo valutato tramite cromatografia (HPLC/UV-Vis), utilizzando il metodo di Schuepp e Rettenmeier (1994); i livelli di radicali liberi (ROS - Radical Oxygen Substances) e la capacità antiossidante con i kit enzimatici ROMS-test e Oxy-adsorbent test della DIACRON (Cesarone e coll., 1999).

Al termine degli 81 giorni di allevamento 25 animali/genotipo sono stati sacrificati per effettuare i rilevamenti sulle carcasse e le analisi qualitative. Su 10 carcasse sono state effettuate i rilievi ponderali: si è proceduto all'eviscerazione, con l'asportazione completa dei visceri non edibili (intestino, stomaco ghiandolare, cistifellea, milza, ingluvie, esofago, trachea), edibili (cuore, fegato, stomaco muscolare) e del grasso asportabile (periviscerale, perineale e addominale) secondo le metodiche ASPA (1996). Ad operazione ultimata la carcassa è stata pesata calda (dissanguata, spiumata ed eviscerata), sulla stessa è stata valutata la presenza di lesioni sternali e dei cuscinetti plantari. Successivamente le carcasse sono state refrigerate per 24 ore a 4° C.

Il giorno successivo alla macellazione è stato registrato il peso del busto, comprendente la carcassa priva di testa, collo e zampe ed è stata calcolata la resa in busto e la resa testa zampe secondo il D.P.R. 10 dicembre 1997, n. 495. I busti sono stati quindi trasportati in laboratorio ove sono stati sezionati i due tagli commerciali principali:

- Petto (muscolo *pectoralis superficialis* senza la base ossea);
- Coscia (muscolo *peroneus longus*).

### ***Campionamento del petto***

La parte superiore dei due petti è stata utilizzata per le determinazioni a tempo 1d, sulla porzione destra è stato determinato il pH, il colore e la tenerezza su carne cruda, la parte superiore della parte sinistra dopo il prelievo di un campione per l'analisi istologica è stato usato per la determinazione delle perdite di cottura e durezza su carne cotta. Le due estremità del petto sono state tagliate ridotte a cubetti una aliquota è stata usata per l'analisi chimica centesimale e una aliquota è stata conservata a -20 per essere usata per le successive determinazioni analitiche.

### ***Ossidazione sul petto***

Le due porzioni del petto sono state tagliate ottenendo per ogni animale 4 porzioni pesate e poste in un contenitore in polietilene coperti da para film e conservati a 2°C per 7, 14, 21, 45 giorni, ogni porzione allo scadere del tempo stabilito è stata prelevata, si è determinato colore perdita di liquidi, pH e si è prelevato un campione conservato in una falcon da 15ml a -70 per le analisi successive.

### ***Analisi fisico-chimiche della carne***

La coscia è stata accuratamente disossata per calcolare il rapporto carne/osso, e il petto è stato asportato dallo sterno. I parametri relativi al pH sono stati valutati con un pHmetro (per infissione), colore, a livello delle due sezioni muscolari prive di pelle, sono state determinati con un analizzatore compatto tristimolo (Minolta Chroma Meters CR-200) adottando il sistema CIELAB (1976) che prevede la misura della luminosità (L\*), dell'indice del rosso (a\*), e dell'indice del giallo (b\*); dalle coordinate di cromaticità (a\* e b\*) saranno calcolati i valori della saturazione o croma (S) e della tinta (T), secondo le formule:

$$(S) = (a^2 + b^2)^{0,5};$$

$$(T) = \arctan (b^*/a^*).$$

Sia sul petto che sulla coscia sono stati registrati i parametri del WHC (capacità di ritenzione idrica), umidità, ceneri, contenuto lipidico e proteico percentuale. Sia dal petto che dalla coscia sono stati ottenuti 10 campioni del peso di circa 30 g che sono stati stoccati in congelatore per le successive analisi qualitative specializzate (vitamina E, vitamina A, profilo acidico, stato ossidativo lipidico e proteico).

### ***L'analisi multicriteri e il metodo Electre***

Dopo aver raccolto tutti i dati sopra descritti, è stata eseguita un'analisi multicriteria preliminare, che sarà approfondita successivamente. La metodologia multicriteri (MDCA - Multiple Criteria Decision Making) è stata

scelta perché in grado di specificare i criteri coinvolti nella decisione e suggerire una priorità di scelte tra le varie variabili (Morais e Almeida, 2006).

Electre II (Huang e Chen, 2005), è una delle applicazioni più usate in contesti multicriteri. Si basa su un confronto a coppie delle alternative e il suo obiettivo finale è quello di arrivare ad una graduatoria.

Come in altri metodi MDCA prima del confronto a coppie, i punteggi degli effetti vengono standardizzati e viene assegnato un "peso" ad ogni effetto. Una relazione di dominanza per ogni coppia di alternative viene derivata utilizzando sia un indice di concordanza che un indice di discordanza. L'indice di concordanza, calcolato come somma dei pesi degli effetti, rappresenta il grado per cui l'iesima alternativa è  $> i'$ . L'indice di discordanza riflette il grado per cui l'alternativa  $i$  è  $< i'$ . Per ogni effetto discordante viene calcolata la differenza tra le due alternative. L'indice di discordanza è definito come la più grande di queste differenze. Ciò riflette l'idea che, al di là di un certo livello, una cattiva performance di un effetto (variabile) non può essere compensata da una buona prestazione per un altro effetto: quindi la variabile viene scartata.

Quattro diverse soglie (debole e forte sia per la tabella di concordanza che di discordanza) fornite dal decisore sono utilizzate per stabilire un rapporto di surclassamento debole e forte tra ogni coppia di alternative, in combinazione con le tabelle di concordanza e discordanza. Attraverso una procedura progressiva di eliminazione si arriva ad una classifica generale delle alternative. Pertanto, anche se la procedura prevede anche una serie di risultati intermedi, il risultato finale è una graduatoria delle alternative.

### ***Protocolli applicati dal CREA-ZA***

Sulla carcassa spiumata di 15 animali per genotipo è stato applicato il seguente protocollo:

<b>PESI</b>	<b>MISURE</b>	<b>VALUTAZIONI</b>
Peso della carcassa	Lunghezza zampa	<b>Valutazione zampa</b>
Peso zampa	Larghezza Zampa	Necrosi
Peso testa+collo	Lunghezza petto	Callo

Peso grasso addominale + pelvico	Larghezza petto	Ematomi
Peso cuore	Lunghezza Busto	Infezioni
Peso milza	Circonferenza busto	<b>Valutazione fegato</b>
Peso fegato	Lunghezza fuso	Macchie
Peso cistifellea	Lunghezza sopra coscia	Margini
Peso ventriglio	Larghezza sopra coscia	Discolorazione
Peso stomaco ghiandolare	Foto zampa	Necrosi
Peso intestini pieni	Foto petto	<b>Valutazione petto</b>
Peso Busto	Foto coscia	Ematomi puntiformi
Peso coscia e sopra coscia	Foto ossa della coscia	Ematomi estesi
Peso petto (Muscolo pettorale profondo e superficiale)		Strisce bianche
Peso ali		
Peso fuso		
Peso sopra coscia		
Peso femore		
Peso tibia		
Peso carne coscia		
Peso pelle coscia		
Peso grasso coscia		
Peso altri tessuti coscia		

Campioni prelevati a tempo zero	Analisi
Fegato intero nel bicchiere e congelato a -20	SS, ceneri, estrazione grasso per acidi grassi analisi al gascromatografo identificazione acidi grassi
Fegato per analisi istologiche porzione congelata a -70	Presenza di fegato steatosico con l'aiuto di Maria
Grasso addominale porzione conservata in falcon da 50 a -20	Estrazione acidi grassi analisi al gascromatografo, identificazione acidi grassi
Petto porzione conservata in 2 falcon da 50 a -20	SS, ceneri grasso , estrazione acidi grassi estrazione amminoacidi, collagene, analisi gascromatografo, analisi HPLC, identificazione acidi grassi amminoacidi potenziale antiossidante valutazione dati
Petto per analisi fisiche porzione superiore del petto da utilizzare sul carne fresca	pH perdita di liquidi, crudo, cotto, colore , tenerezza crudo cotto
Petto per analisi istologiche Porzione conservata a -70	Analisi dei fasci muscolari e delle strisce bianche valutazione dei dati
Muscolo rosso coscia porzione conservato in falcon da 15 a -20	estrazione acidi grassi estrazione amminoacidi, collagene, analisi gascromatografo, analisi HPLC, identificazione acidi grassi amminoacidi
Muscolo rosso coscia analisi istologiche porzione conservata a -70	Analisi percentuale fibre bianche e rosse
Muscolo bianco coscia porzione conservato in falcon da 15 a -20	estrazione acidi grassi estrazione amminoacidi, collagene, analisi gascromatografo, analisi HPLC, identificazione acidi grassi amminoacidi

Muscolo bianco coscia analisi istologiche porzione conservata a -70	Analisi percentuale fibre bianche e rosse
Pelle della coscia falcon da 50	Analisi da determinare
Carne macinata coscia 2 falcon da 50	SS, ceneri grasso , estrazione acidi grassi estrazione amminoacidi, collagene, analisi gascromatografo, analisi HPLC, identificazione acidi grassi amminoacidi potenziale antiossidante.Valutazione dei dati
Intestino e contenuto intestinale solo 4 animali per TG pertanto esce dalla prova	
Campione in falcon da 15 per ogni tempo di conservazione	Colore, perdita di liquidi, TBARS, Tioli. Valutazione dei dati

## Metodiche utilizzate

### ***Analisi chimiche centesimali (AOAC)***

Le analisi chimiche centesimali, sostanza secca, ceneri, proteine totali e estratto etereo sono state effettuate secondo le metodiche AOAC (1995).

**Il contenuto di umidità** (AOAC, 1995, n. 926.08) è stato determinato essiccando il campione a 102 °C per 24 ore in capsule di porcellana preventivamente tarate;

**Le ceneri totali** (AOAC, 1995, n 923.03) sono state determinate in muffola per incenerimento del campione a 525 °C per 24.

**Il grasso totale** è stato determinato secondo il metodo Soxhlet (AOAC 1995, n. 948.15), previa idrolisi acida con HCl 3N. La sostanza dopo essere stata neutralizzata con successivi lavaggi con acqua è stata essiccata e i lipidi totali sono stati estratti mediante etere di petrolio con l'ausilio di ditali di cellulosa.

**La proteina grezza** è stata determinata per differenza.

Tutti i dati sono stati espressi in percentuale sul campione tal quale.

### ***Colore***

Il colore è stato misurato con il colorimetro spettrofotometro Minolta CM-3600 D (Konica Minolta Holdings Inc., Japan) con illuminante D65, che simula la luce diurna. Dopo la calibrazione (nero e bianco) dello strumento sono stati determinati gli indici L\* (luminosità), a\* (rosso) e b\* (giallo), C\* (croma) e H\* (tinta) secondo AMSA (2012).

### ***Tenerezza sul crudo e sul cotto***

Lo sforzo al taglio (Warner Bratzler Shear WBS) è stato determinato su una porzione di campione con sezione 1x1 cm, il taglio è avvenuto perpendicolarmente alle fibre. Lo sforzo al taglio è stato determinato con l'Instron 4411 (Instron, High Wycombe, UK) equipaggiato di lama triangolare con avanzamento della lama di 200 mm/min secondo come riportato da Chrystall, Culioli, Demeyer, Honikel, Moller, Purslow, Schwagele, Shorthose & Uytterhagen (1994). Per la misurazione della tenerezza sul cotto si è utilizzata una porzione di campione che è stata inserita in una busta di polietilene con un modesto sottovuoto, immersa in un bagnomaria termostato a 75°C e cotta per 50 minuti, fino a che la temperatura interna non abbia raggiunto i 70°C. Si è poi fatta raffreddare sotto acqua corrente per 45 minuti e dopo averla asciugata si è valutato lo sforzo al taglio.

### ***Perdita d'acqua sul crudo e sul cotto***

La perdita di liquidi (WHC) sul crudo è stata determinata su una porzione di petto, posta in una busta di polietilene, per differenza di pesate sul campione lasciato in frigorifero a 4°C per 24 h. La perdita di liquidi sul cotto (water loss), invece, è stata determinata sia sulla coscia che sul petto, inserendo le porzioni in una busta di polietilene con un modesto sottovuoto, immersa in un bagnomaria termostato a 75°C e cotta per 50 minuti, fino a che la temperatura interna non abbia raggiunto i 70°C. Si è poi fatta raffreddare sotto acqua corrente per 45 minuti e dopo averla asciugata si è ripesata per il calcolo della perdita. I dati sono espressi in percentuale.

### ***Collagene***

Il collagene è stato determinato secondo il metodo Kolar 1990 determinando il contenuto dell'aminoacido più rappresentato, l'idrossiprolina HYP. Il campione di carne è stato fatto digerire per 14 ore con un acido forte a 100°C, neutralizza con NaOH, filtrato e diluito, tale da ottenere una concentrazione di HYP in un range di 0,5-2,4 µg/ml, il campione così diluito è stato fatto reagire con una soluzione ossidante e successivamente posto a bagnomaria a 60°C per 15 minuti con il reagente colorimetrico a base di paradimetilaminobenzaldeide. La concentrazione di HYP è stata determinata tramite spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 560 nm. Moltiplicando il valore per 7,5 si ha la quantificazione del collagene totale.

### ***Aminoacidi***

L'analisi dei 18 amminoacidi, essenziali e non essenziali, è stata effettuata su campioni digeriti per 14 h a 110°C in acido cloridrico 6 N; successivamente tutti i campioni sono stati derivatizzati secondo le procedure dell' AccQ • Fluor reagent kit della Waters (Milford, MA, U.S.A.) e corsi all'HPLC Waters 2695 su colonna Water AccQ • Tag column (3.9 x 150 mm) flusso 1 ml/min e detector Fluorimetro Waters 2475 con eccitazione 250 nm ed emissione 395 nm. I picchi sono stati identificati e quantificati usando gli amminoacidi standard forniti dal kit ed espressi in g/100g di sostanza secca.

### ***Acidi grassi***

L'estrazione dei lipidi è stata effettuata su 5 g di carne con una miscela di cloroformio/metanolo (2:1, v/v) secondo il metodo di Folch et al. (1957). Il grasso estratto è stato metilato secondo il metodo I.U.P.A.C. (1987) che prevede l'aggiunta a circa 100 mg di grasso, di 1 ml di esano e di 0,05 ml di una soluzione metanolica di KOH 2 N. La composizione acidica è stata rilevata per gascromatografia, impiegando un GC con rivelatore a ionizzazione di fiamma Agilent Technologies, modello 6890N, una colonna capillare CP-Sil88 in silice (cyanopropylpolysiloxane Agilent, 2560; 100 m, 0.25 mm(i.d.), 0.25µm di spessore) ed utilizzando come gas di trasporto l'elio ad un flusso costante di 1ml/min. La temperatura dell'iniettore è stata impostata a 250°C del FID a 300°C e la scala di temperatura è stata programmata secondo Cifuni et al (2014).

### ***TBARS (Malondialdeide e sostanze reattive al TBA)***

È stato utilizzato un campione omogenizzato in acqua da cui sono state allontanate le proteine grazie ad una soluzione di TCA 10 mM. L'estratto così ottenuto è stato fatto reagire con acido tiobarbiturico (TBA) e iniettato in una colonna C18 in HPLC. La fase mobile è composta da una soluzione 5mM a pH 7 di fosfato di sodio e la lettura del composto avviene in fluorescenza con estinzione 515 nm ed emissione 543 nm (Bergamo et al., 1998).

### ***Ossidazione proteica determinazione dei gruppi carbonilici (CO) e tiolici (SH)***

L'ossidazione delle proteine è stata misurata mediante la valutazione della concentrazione del gruppo carbonilico e di tioli liberi, per via spettrofotometrica grazie alle formazione di legami stabili con la dinitrofenilidrazina (DNPH) e ditiobisnitropiridina (DTNP) molecole cromofore che si legano rispettivamente ai due gruppi, secondo le metodiche descritte da Mercier et al (1998) per i carbonili e Winterbourn, (1990) per i gruppi tiolici. Brevemente per la determinazione del gruppo CO 1 g di carne viene omogenizzato con un buffer fosfato a pH7, due aliquote sono prelevate, rispettivamente una per il bianco campione e l'altro per la reazione colorimetrica, le proteine vengono precipitate con il TCA e dopo centrifugazione i pellets vengono incubati uno

con acido cloridrico (bianco) e l'altro con la DNPH per 1 ora al buio; successivamente vengono posti a bagno maria a 60°C per solubilizzare i plettes e dopo raffreddati letti allo spettrofotometri a 370 nm. I gruppi carbonilici sono espressi come nmoli di DNPH fissati per mg di proteine. Per i gruppi tioli invece 1 gr di carne in doppio è stato omogenizzato in una soluzione di KCl e diluito 1/50 con tampone fosfato con Urea 8M, successivamente una aliquota è stata fatta reagire con la DTNP per 30 minuti al buoi e letta a 386 nm mentre l'altra aliquota è stata letta tal quale alla stessa lunghezza d'onda. I gruppi tiolici sono stati espressi come nmoli di SH/mg proteina.

### ***FERRO EMICO (Ematina)***

E' stata basata sull'estrazione del gruppo eme dai pigmenti mediante acetone e sulla misura dell'assorbanza di un estratto di cloridrato di ematina per aggiunta di HCl secondo la metodica di Hornsey (1956). Il campione è stato omogenizzato con la soluzione di acetone, successivamente aggiunto l'acido cloridrico e lasciato incubare al buio. Il campione quindi è stato letto allo spettrofotometro ed espresso in mg/100 g.

## Risultati UO DSA3

### Performance produttive

Nella Tabella 2 sono riportate le prestazioni produttive degli animali nel corso della prova, dall'accasamento alla macellazione, in funzione dei fattori sperimentali considerati.

Il peso iniziale dei pulcini Ranger Classic (RC), Ranger Gold (RG) e Rowan Ranger (RR) appartenenti al genotipo Aviagen è risultato simile al momento dell'accasamento ( $\sim 0,505 \pm 0,013$  g, in media), ma le prestazioni dei tre tipi genetici si sono differenziate nel corso della prova. Al termine degli 81 giorni di allevamento il Ranger Classic ha mostrato un peso superiore ( $P < 0,05$ ) rispetto agli altri due genotipi Ranger (3,92 vs 3,40 vs 3,02 kg, Ranger Gold e Rowan Ranger, rispettivamente). Dall'andamento dei pesi vivi degli animali rilevati nel corso del periodo sperimentale, si vede che il genotipo Ranger Classic è stato caratterizzato da un incremento ponderale giornaliero maggiore (62,24 g/d) rispetto a tutti gli altri genotipi.

Come si può vedere dalla Tabella 2 il genotipo che ha avuto un migliore indice di conversione alimentare è stato CY gen 5 X JA87 (2,90), a seguire Ranger Classic (3,10), M22 x JA87 (3,41) e Campese (3,60).

Nel caso del Ranger Gold e Rowan Ranger, questi hanno mostrato ICA peggiori rispetto a tutti gli altri genotipi (4,40 e 5,79, rispettivamente).

Se andiamo a considerare l' ICA, il Campese ha riportato valori intermedi (3,60). Inoltre, il Campese, insieme con il Ranger Gold sono genotipi che hanno mostrato a fine prova una mortalità pari al 2% che è risultata essere la più bassa (dati non riportati). Per quanto riguarda i genotipi Ranger Classic, Rowan Ranger e M22 x JA87, questi hanno mostrato una mortalità maggiore, in media 9-13%. Il CY gen 5 x JA87 oltre al migliore valore di ICA ha riportato un elevato peso finale (3,64 kg) e una mortalità intermedia rispetto agli altri (6%, dati non riportati).

Tabella 2. Prestazioni produttive di diversi genotipi

		RANGER CLASSIC	RANGER GOLD	ROWAN RANGER	CAMPESE	CY gen 5 x JA87	M22 x JA87	SEM
Peso vivo	g	3928,3 <sup>b</sup>	3403,6 <sup>ab</sup>	3022,1 <sup>a</sup>	3083,6 <sup>a</sup>	3639,3 <sup>ab</sup>	3405,0 <sup>ab</sup>	344,0
Consumo di alimento	g/d	182,40 <sup>b</sup>	160,65 <sup>ab</sup>	124,46 <sup>a</sup>	143,64 <sup>ab</sup>	164,93 <sup>ab</sup>	164,72 <sup>ab</sup>	20,09
AMG	"	62,24 <sup>b</sup>	54,65 <sup>a</sup>	46,22 <sup>a</sup>	46,99 <sup>a</sup>	55,91 <sup>a</sup>	52,03 <sup>a</sup>	5,99
ICA		3,10 <sup>a</sup>	4,40 <sup>ab</sup>	5,79 <sup>b</sup>	3,60 <sup>a</sup>	2,90 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	1,08

a..b = P<0,05

## Comportamento e benessere animale

Dai risultati ottenuti al termine della sperimentazione, si evince che vi sono notevoli differenze tra i genotipi utilizzati nella prova, sia per quanto riguarda l'*initial interest* (stima dell'interesse iniziale nell'uscire ad esplorare il parchetto) sia per l'espletamento dei diversi moduli comportamentali a 5 e 10 metri di distanza dal ricovero. Relativamente all'*initial interest*, i dati raccolti attraverso il sistema NOLDUS per singolo genotipo, sono stati messi in relazione tra di loro per poter meglio osservare le diverse difformità (Grafico 1).

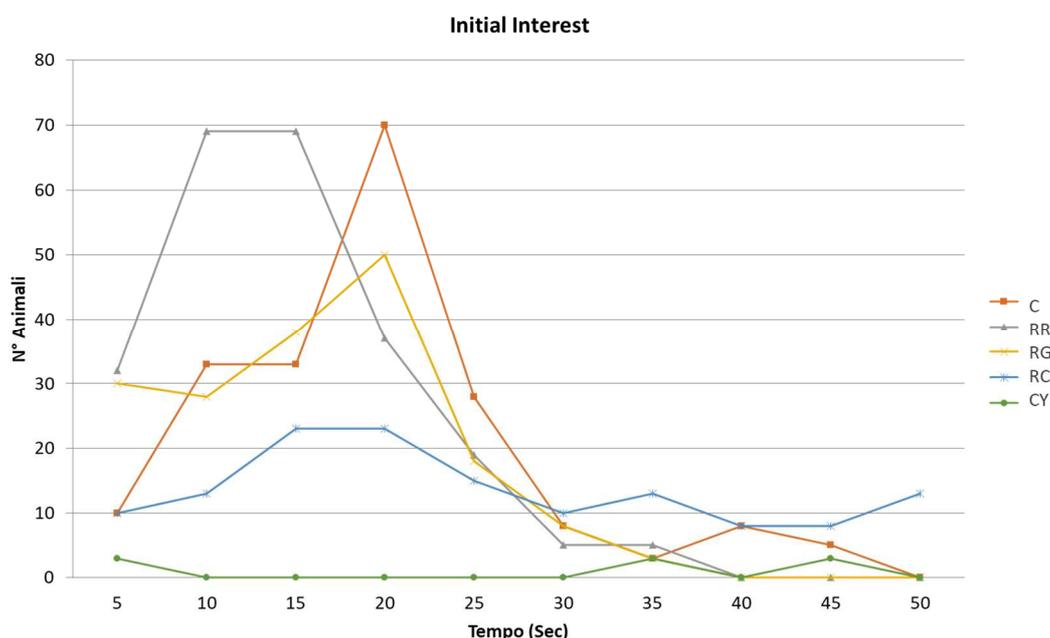


Grafico 1: Confronto dell'*Initial Interest* nei sei genotipi avicoli. RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.

Il grafico mostra chiaramente che il genotipo Rowan Ranger risulta essere quello più esplorativo. Anche il genotipo Campese, presenta una buona reattività, tuttavia il picco massimo di fuoriuscita risulta leggermente posticipato rispetto al Rowan Ranger (20 secondi circa). I genotipi CY gen 5 x JA87 e Ranger Classic al contrario hanno mostrato uno scarso *initial interest*. M22 x JA87 infine non è rappresentato nel grafico in quanto nessun soggetto, appartenente a tale genotipo, è fuoriuscito dal ricovero durante le riprese nell'unità di tempo stabilita.

L'analisi dei moduli comportamentali inoltre ha consentito di poter meglio definire l'adattabilità dei diversi genotipi al sistema di allevamento in esame. Le Tabelle 3 e 4 riportano i principali comportamenti osservati nei sei genotipi ad una distanza di 5 e 10 m dal ricovero.

Tabella 3: Confronto delle principali categorie comportamentali dei sei genotipi avicoli a 5 metri di distanza dal ricovero. I valori espressi, medie in forma percentuale, all'interno di una colonna con apici diversi differiscono significativamente a  $P < 0.05$ .

5 m	Rest	Walking	Roost	Feed	Grass	Drink	Comfort	Verifica
RANGER CLASSIC	20,99 <sup>abc</sup>	0	74,10 <sup>d</sup>	3,12 <sup>a</sup>	1,79 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0	100
RANGER GOLD	20,59 <sup>ab</sup>	14,41	25,07 <sup>b</sup>	18,16 <sup>b</sup>	20,6 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	1.17	100
ROWAN RANGER	4,68 <sup>a</sup>	13,80	3,53 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	77,20 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.79	100
CAMPESE	33,15 <sup>bc</sup>	18,75 <sup>*</sup>	22,79 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup>	15,78 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	9,53	100
CY gen 5 X JA87	8,13 <sup>ab</sup>	4,75	29,86 <sup>bc</sup>	0 <sup>a</sup>	17,55 <sup>b</sup>	39,37 <sup>b</sup>	0.34	100
M22 x JA87	23,60 <sup>abc</sup>	1,54 <sup>*</sup>	72,81 <sup>d</sup>	0 <sup>a</sup>	2,05 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0	100

a..c =  $P < 0,05$ ; \* =  $P < 0,1$

Tabella 4. Confronto delle principali categorie comportamentali dei sei genotipi avicoli a 10 metri di distanza dal ricovero. I valori espressi risultano medie espresse in forma percentuale con a.,b.,c.. =  $P < 0,05$ .

10 m	Rest	Walking	Roost	Feed	Grass	Drink	Comfort	Verifica
RANGER CLASSIC	19,40	6,98	34,72 <sup>c</sup>	30,15 <sup>c</sup>	8,75 <sup>b</sup>	0	0	100
RANGER GOLD	8,22	2,49	58,82 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	29,77 <sup>a</sup>	0	0,70	100
ROWAN RANGER	6,11 <sup>*</sup>	9,51	1,50 <sup>a</sup>	45,71 <sup>a</sup>	35,94 <sup>a</sup>	1,23	0	100
CAMPESE	23,18 <sup>*</sup>	8,01	22,23 <sup>c</sup>	0 <sup>b</sup>	45,21 <sup>a</sup>	0	1,37	100

a..c =  $P < 0,05$ ; \* =  $P < 0,1$

In particolare, il Rowan Ranger è stato il genotipo che ha espresso con minor frequenza, il comportamento “rest” (fermo in stazione) al contrario del Campese che ha mostrato la frequenza maggiore, mentre CY gen 5 x JA87 ha esibito frequenze intermedie. Il comportamento “roost” (restare fermo appollaiato) ha mostrato ampia variabilità, in particolare il genotipo Rowan Ranger differisce da tutti gli altri genotipi, esibendo la frequenza minore; mentre i genotipi Campese, Ranger Gold e CY gen 5 x JA87 mostravano frequenze intermedie; infine è possibile osservare che M22 x JA87 e Ranger Classic sono i genotipi che maggiormente hanno effettuato tale

comportamento. Dunque, confrontando i tre parametri cinetici, il Campese ha presentato la media più alta per quanto riguarda “walking” (camminare) e allo stesso tempo il più alto valore di rest (restare fermo appollaiato) ponendosi in seconda posizione rispetto al genotipo Rowan Ranger che sebbene abbia mostrato un valore “walking” più basso rispetto ad altri genotipi, presentava bassissimi valori di “rest” e “roost”, ciò probabilmente in virtù della conformazione corporea maggiormente tendente verso un linea leggera. Per quanto concerne l'alimentazione, la maggior frequenza nel consumo di mangime (feed) si è registrato nel genotipo Ranger Gold, mentre per il consumo di pascolo si è distinto positivamente il genotipo Rowan Ranger; al contrario CY gen 5 x JA87 e M22 x JA87 presentavano un consumo irrilevante di erba. Infine, per i comportamenti di comfort non sono state riscontrate differenze significative.

Per i comportamenti a 10 metri di distanza dal ricovero, riportati nella Tabella 4, non risultano presenti i genotipi M22 x JA87 e CY gen 5 x JA87 poiché nessun soggetto si è spinto oltre i 5 metri dal ricovero. In questo caso, per il comportamento “rest” (fermo in stazione) non si sono riscontrate differenze significative, ma è necessario sottolineare che il genotipo Campese esprimeva una frequenza di circa 4 volte superiore rispetto al genotipo Rowan Ranger. Per il comportamento “walking” (camminare) non sono risultate difformità tra i genotipi mentre per il comportamento “roost” (restare fermo appollaiato), il Rowan Ranger si differenziava da tutti i genotipi esibendo il valore più basso (1,50); il Ranger Gold presentava il valore più alto, mentre i genotipi Ranger Classic e Campese mostravano valori intermedi. Anche in questo caso, osservando attentamente i valori, si deduce che il genotipo Rowan Ranger e il Campese, risultavano essere quelli con i più elevati comportamenti cinetici. Per i consumi di mangime (feed) il Rowan Ranger ha mostrato la più elevata frequenza di consumo (45,71), seguito dal genotipo Ranger Classic (30,15) mentre Ranger Gold e Campese non mostravano tale comportamento. Il consumo di pascolo è risultato particolarmente elevato nel genotipo Campese, con a seguire Rowan Ranger e Ranger Gold. Il genotipo Ranger Classic presentava il consumo d'erba più basso (8,75). Per i comportamenti di comfort, come per la distanza a 5 m, non sono state rilevate differenze significative.

*Tabella 5. Confronto delle condizioni del piumaggio nei sei genotipi avicoli. I valori riportati rappresentano la media del punteggio attribuito mediante scala Tauson.*

Genotipo	RANGER CLASSIC	RANGER GOLD	ROWAN RANGER	CAMPESE	CY GEN 5 X JA87	M22 x JA87
Collo	3,71	3,57	3,71	4,00	2,75	3,00
Petto	1,57	1,71	1,71	2,14	1,00	1,25

Ali	3,29	3,57	3,29	3,43	2,25	2,00
Schiena	4,00	4,00	3,71	4,00	3,00	3,25
Coda	3,43 <sup>b</sup>	3,43 <sup>b</sup>	3,14 <sup>b</sup>	3,43 <sup>b</sup>	1,75 <sup>a</sup>	2,50 <sup>ab</sup>

a..b= P < 0,05.

Come riportato in precedenza, la valutazione delle condizioni del piumaggio (Tabella 5) è stata effettuata secondo la scala Tauson, con valori da 0 (assenza di piumaggio) a 4 (piumaggio perfetto). Dall'osservazione della Tabella 5 si denota che il genotipo Campese presentava le condizioni migliori per quanto riguarda le regioni anatomiche del collo e del petto mentre per il piumaggio della schiena e della coda, quasi tutti gli animali hanno fatto riscontrare buoni risultati, fatta eccezione per i genotipi CY gen 5 x JA87 (1,75) e M22 x JA87 (2,50) che, come in tutte le restanti regioni del corpo, hanno mostrato i risultati peggiori.

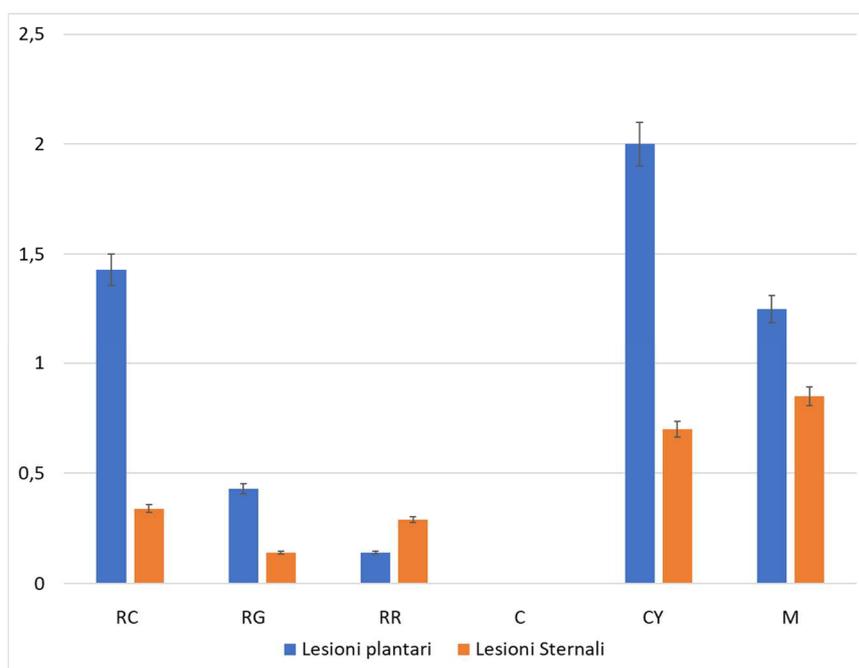


Grafico 2. medie delle lesioni plantari e sternali su una scala da 0 (assenza di lesioni) a 2 (presenza di ulcere) dei sei genotipi avicoli.  
RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.

Nel genotipo CY gen 5 x JA87 oltre a pessime condizioni del piumaggio, si è anche riscontrato la presenza di lesioni plantari e sternali (2,00 e 0,70 rispettivamente). Al contrario, il Campese oltre che per il miglior piumaggio, si è distinto anche per l'assenza di lesioni sternali e plantari (Grafico 2). Ciò probabilmente è dovuto al fatto che tale genotipo è risultato essere, insieme al genotipo Rowan Ranger, quello più incline al movimento

e all'esplorazione degli spazi esterni, mentre CY gen 5 x JA87 e M22 x JA87 risultavano più statici e inclini al riposo e allo stazionamento all'interno dei ricoveri, come confermano le precedenti Tabelle.

*Tabella 6: Media dei valori di tonic immobility, dei sei genotipi avicoli, espressa in secondi.*

Genotipo	RANGER CLASSIC	RANGER GOLD	ROWAN RANGER	CAMPESE	CY gen 5 x JA87	M22 x JA87
<b>T.I.</b>	10,57 <sup>b</sup>	23,71 <sup>c</sup>	21,57 <sup>c</sup>	15,57 <sup>bc</sup>	2,25 <sup>a</sup>	11,75 <sup>b</sup>

a..c = P < 0,05.

Relativamente alla tonic immobility (Tabella 6), considerato un indice di stress dell'animale, la migliore reattività si è riscontrata nei genotipi CY gen 5 x JA87, Ranger Classic e M22 x JA87. Questo risultato potrebbe essere giustificato dal fatto che i soggetti appartenenti a tali genotipi, essendo prevalentemente statici (come si evince dallo studio del comportamento), abbiano subito meno lo stress da cattura. Al contrario, tra i genotipi maggiormente cinetici, il Campese si è dimostrato quello più reattivo, cui fa seguito il genotipo Rowan Ranger ed infine il genotipo Ranger Gold. Sebbene la tonic immobility sia un parametro ufficialmente riconosciuto, dal mondo scientifico, per la valutazione dello stato di stress dell'animale, esso deve comunque essere preso in considerazione in unione ai parametri fisiologici, infatti Mugnai e coll. (2004) riportano che a bassi valori di Tonic Immobility (ridotto stato di stress) corrispondono bassi valori del rapporto eterofili/linfociti (H/L, buono stato di salute) e/o bassi valori di lisozima sierico (assente risposta immunitaria flogistica). I parametri ivi citati sono riportati nel paragrafo successivo.

### **Valutazione dello stato fisiologico e immunitario in vivo**

Dal plasma e dal siero ottenuti, sono stati analizzati i parametri indicatori di stress e lo stato immunitario. In particolare, come accennato precedentemente sono state prese in considerazione due variabili significativamente differenti: il rapporto eterofili/linfociti (H/L) e la concentrazione di lisozima sierico (P < 0,05, Tabella 7). I dati mostrano che i genotipi Rowan Ranger e Campese avevano valori minori sia di lisozima sierico che di rapporto H/L, facendo supporre un miglior stato di benessere degli animali, nonostante i valori di tonic immobility fossero migliori nei genotipi CY gen 5 x JA87, Ranger Classic e M22 x JA87. In relazione a quanto detto precedentemente si evince che non è possibile precludere la tonic immobility dai parametri fisiologici per una corretta valutazione dello stato di benessere degli animali.

Per quanto riguarda gli altri parametri immunologici, non si sono riscontrate differenze significative (P>0,05).

**Tabella 7. Effetto del genotipo sullo stato immunitario plasmatico**

		RANGER CLASSIC	RANGER GOLD	ROWAN RANGER	CAMPESE	CY GEN 5 X JA87	M22 x JA87	SEM
WBC	10 <sup>3</sup> /μl	88,80	74,97	102,15	85,30	109,93	101,40	19,35
HGB	g/dl	15,30	13,60	15,83	16,33	19,23	16,80	2,16
HCT	%	26,70	21,67	28,60	27,90	34,30	30,17	4,32
RBC	10 <sup>6</sup> /μl	2,18	1,93	2,35	2,23	2,84	2,47	0,35
MCV	fl	122,33	111,80	121,63	125,23	120,83	121,87	2,16
MCH	pg	70,33	70,60	67,57	73,03	68,47	67,93	3,08
MCHC	g/dl	57,50	63,13	55,53	58,33	56,60	55,70	2,80
PLT	10 <sup>3</sup> /μl	7,33	7,00	24,00	8,67	10,00	6,33	5,93
Linfociti	%	44,67	51,00	50,67	52,67	48,00	33,33	6,98
Eterofili	%	42,33	38,00	34,33	38,33	41,33	59,00	7,32
Monociti	%	3,33	1,00	3,00	6,00	6,33	2,00	2,00
Eosinofili	%	9,67	10,00	12,00	3,00	4,33	4,67	2,06
Basofili	%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,20
H/L		0,95 <sup>b</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>	0,86 <sup>ab</sup>	1,77 <sup>c</sup>	0,23
Lysozima	μg/mL	98,24 <sup>b</sup>	114,29 <sup>b</sup>	72,28 <sup>a</sup>	83,40 <sup>a</sup>	90,06 <sup>ab</sup>	116,69 <sup>b</sup>	47,82
ROMs	mmol	0,81 <sup>ab</sup>	0,91 <sup>b</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,82 <sup>ab</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	0,13
PAO	μmol HClO/mL	519,86	520,49	510,37	600,41	602,31	644,07	20,22

E' stato inoltre valutato lo stato ossidativo *in vivo* (Tabella 8). I risultati, hanno dimostrato che i polli che presentavano una maggiore attività pascolativa (Rowan Ranger, Campese ed in minor parte Ranger Gold) mostravano un contenuto di α-tocoferolo plasmatico maggiore, probabilmente dovuto alla maggior ingestione di erba (alimento ricco di composti bioattivi, Dal Bosco e coll., 2016) come dimostrato anche dallo studio del comportamento.

In accordo, i valori di TBARS (indice di ossidazione lipidica) e dei carbonili (indice di ossidazione proteica), sono risultati maggiori nel genotipo Ranger Classic, ovvero negli animali che hanno avuto una discreta attività

cinetica ma una ridotta assunzione di pascolo (Tabella 8). Tale risultato sottolinea l'importanza del pascolo, in un sistema di allevamento estensivo (Dal Bosco et al., 2016), in quanto grazie l'ingestione di erba, e quindi alle molecole antiossidanti in essa contenute, gli animali riescono a tamponare la spinta ossidativa innescata dal movimento (Cartoni Mancinelli e coll., 2018).

**Tabella 8. Effetto del genotipo sullo stato ossidativo *in vivo*.**

		RANGER CLASSIC	RANGER GOLD	ROWAN RANGER	CAMPESE	CY GEN 5 XJA87	M22 x JA87	SEM
Retinolo	nmol/ml	6,71	5,78	5,39	5,94	4,76	4,25	0,69
$\alpha$ -tocotrienolo	"	0,09	0,11	0,06	0,07	0,18	0,13	0,04
$\delta$ -tocoferolo	"	0,10	0,08	0,14	0,11	0,12	0,14	0,06
$\gamma$ -tocoferolo	"	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,002
$\alpha$ -tocoferolo	"	0,09	0,04	0,03	0,08	0,06	0,06	0,01
$\Sigma$ tocoferoli	"	0,30	0,23	0,23	0,27	0,36	0,33	0,06
$\Sigma$ Antiossidanti	"	7,02	6,02	5,62	6,21	5,12	4,58	0,47
TBARS	nmol MDA/ml	61,6 <sup>d</sup>	49,1 <sup>c</sup>	38,0 <sup>b</sup>	25,6 <sup>a</sup>	30,12 <sup>ab</sup>	38,8 <sup>b</sup>	1,62
Carbonili	nmol/mg proteine	5,40 <sup>c</sup>	9,70 <sup>d</sup>	1,18 <sup>b</sup>	1,77 <sup>b</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,24

a..d = P < 0,05.

### ***Analisi sulle carcasse***

Nel corso del campionamento in laboratorio sono stati rilevati tutti i paraetri riguardanti le carcasse degli animali. I genotipi che hanno mostrato caratteristiche più simili tra loro sono stati Rowan Ranger e Campese (Tabella 9). In linea di massima però le caratteristiche delle carcasse degli animali su cui è stato condotto lo studio sono più o meno intermedie se paragonate a genotipi estremi a rapido accrescimento (i.e. Ross 308) o razze autoctone a lento accrescimento (i.e. Livorno, Ancona; Dal Bosco e coll, 2014).

Partendo dal peso della carcassa fredda, misurato a 24 ore di refrigerazione a 4°C, tra i risultati riportati in Tabella 9 è emerso che le carcasse dei sei genotipi avevano un peso più o meno omogeneo (2586,1 g), ad eccezione di quelli appartenenti ai genotipi Rowan Ranger e Campese, i quali hanno fatto registrare un peso della carcassa fredda inferiore rispetto agli altri (1965,6 g e 2068,6 g rispettivamente).

Altri parametri strettamente connessi alle caratteristiche della carcassa come la resa percentuale testa e zampe, sono risultati maggiori negli animali del gruppo CY gen 5 x JA87 e M22 x JA87 (85,6 e 85,9 % rispettivamente). Un'altra osservazione interessante è quella relativa al peso del busto, in quanto è stato riscontrato che il genotipo Ranger Classic, ha raggiunto il peso più elevato (2601,3 g). Mentre quelli che avevano un peso del busto inferiore sono stati Rowan Ranger e Campese, i quali anche in molti altri parametri (peso petto e peso fusello) si sono dimostrati i più leggeri. Dai risultati si evince che i polli M22 x JA87 riportano un valore di spessore del petto maggiore (19,2 cm) rispetto agli altri genotipi. Gli animali M22 x JA87 infatti, insieme con Ranger Classic, hanno registrato le rese del petto più elevate (27,9% e 28,0%). Anche il peso del fusello presentava valori elevati in M22 x JA87, mentre Rowan Ranger si posizionava tra i più bassi. Per quanto concerne il rapporto muscolo/osso si nota dalla stessa tabella che il più elevato è stato quello del genotipo Ranger Classic (3,4) anche se dato il peso della coscia abbastanza elevato, come anche il busto in generale, si potrebbe pensare che questi animali abbiano avuto uno sviluppo osseo ridotto rispetto ad altri genotipi altrettanto pesanti (M22 x JA87, CY gen 5 x JA87).

Per quanto riguarda il grasso addominale bisogna tenere presente che i genotipi testati erano geneticamente diversi tra loro, di conseguenza è stato necessario formulare una dieta intermedia in grado di soddisfare i fabbisogni di tutti gli animali, questo ha inevitabilmente portato ad avere una quantità di grasso addominale nei genotipi più leggeri e minore in quelli più pesanti. Facendo riferimento alla Tabella 9, si può notare che il Campese, pur essendo uno dei genotipi più leggeri, mostrava una quantità di grasso addominale pari a 48,3 g (circa il 75% in più rispetto alla media degli altri genotipi).

**Tabella 9. Caratteristiche della carcassa dei diversi tipi genetici considerati**

		<i>RANGER CLASSIC</i>	<i>RANGER GOLD</i>	<i>ROWAN RANGER</i>	<i>CAMPESE</i>	<i>CY gen 5 x M22 JA87</i>	<i>x M22 JA87</i>	<i>x SEM</i>
Carcassa fredda	“	2547,9	2594,6	1965,6	2068,6	2718,7	2483,3	260,2
Resa zampe	testa %	81,1 <sup>a</sup>	83,3 <sup>ab</sup>	79,8 <sup>a</sup>	81,7 <sup>ab</sup>	85,6 <sup>ab</sup>	85,9 <sup>ab</sup>	3,20
Testa + collo	g	186,0	184,0	166,7	175,0	169,0	168,9	3,78
Zampe	“	112,6	97,5	79,9	91,0	127,4	115,0	4,23

Visceri edibili	"	146,0	153,8	138,4	127,8	140,6	125,8	20,45
Busto	"	2746,3 <sup>b</sup>	2402,0 <sup>ab</sup>	2036,0 <sup>a</sup>	2122,6 <sup>a</sup>	2842,0 <sup>ab</sup>	2516,7 <sup>b</sup>	315,8
Resa busto	%	69,8	70,5	67,1	68,9	77,7	73,9	12,80
Ventriglio pieno	g	68,8	78,5	75,3	64,4	65,1	59,1	4,12
Ventriglio vuoto	"	54,2	56,6	58,1	51,4	50,6	53,7	2,43
Grasso addominale	"	45,1 <sup>b</sup>	40,3 <sup>b</sup>	29,5 <sup>a</sup>	48,3 <sup>b</sup>	34,6 <sup>ab</sup>	42,2 <sup>b</sup>	2,87
Lunghezza sterno	cm	18,3 <sup>ab</sup>	18,5 <sup>ab</sup>	16,6 <sup>a</sup>	17,0 <sup>a</sup>	17,1 <sup>a</sup>	19,2 <sup>b</sup>	1,33
Spessore petto	"	4,9	4,4	4,1	4,5	5,0	5,0	0,34
Lunghezza tibia	"	7,8	8,0	7,5	7,9	7,5	7,4	0,20
Peso petto	g	712,4 <sup>b</sup>	545,0 <sup>ab</sup>	443,4 <sup>a</sup>	398,8 <sup>a</sup>	556,8 <sup>ab</sup>	690,6 <sup>b</sup>	20,12
Resa petto	%	28,0 <sup>c</sup>	21,1 <sup>b</sup>	22,7 <sup>b</sup>	19,4 <sup>b</sup>	20,6 <sup>b</sup>	27,9 <sup>c</sup>	2,36
Peso fusello	g	234,9 <sup>b</sup>	186,4 <sup>a</sup>	158,5 <sup>a</sup>	173,6 <sup>a</sup>	196,0 <sup>a</sup>	245,7 <sup>b</sup>	31,09
Muscolo/osso		3,4 <sup>b</sup>	2,6 <sup>ab</sup>	2,7 <sup>b</sup>	2,5 <sup>ab</sup>	2,7 <sup>b</sup>	2,5 <sup>ab</sup>	0,40

a..c = P<0,05.

### ***Analisi fisico-chimiche della carne***

In Tabella 10 sono riportati i valori delle caratteristiche fisiche della carne del petto e della coscia degli animali in studio. I valori della tenerezza e della ritenzione idrica dei sei genotipi hanno mostrato un andamento pressoché simile nel petto, ma superiore nella coscia. Tale differenza è sicuramente rapportabile alla natura metabolica del muscolo in questione: la coscia infatti essendo un muscolo deputato al movimento è maggiormente soggetto allo stimolo e varia le sue caratteristiche biochimiche in relazione agli stessi.

Altra interazione di parametri importante da notare è sicuramente quella tra il valore del pH finale e la colorazione della carne. Una forte similitudine qualitativa tra razze autoctone italiane a lento accrescimento (i.e. Livorno ed Ancona, Dal Bosco et al., 2011, 2014) e i sei genotipi è stata riscontrata nell' indice del rosso (a\*) del petto, da cui si evince che il Campese è quello che si discostava di più, restando comunque ad un valore molto vicino (4,61). Il maggior indice del rosso del genotipo Campese e in minor misura del Rowan Ranger, è

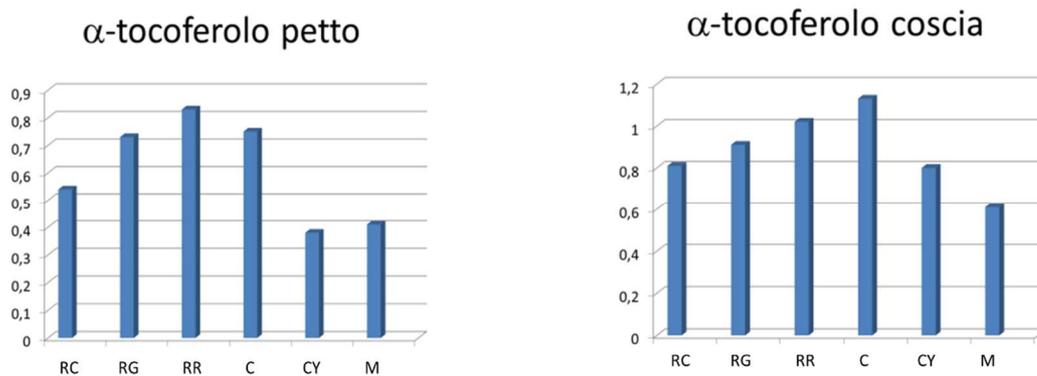
probabilmente rapportabile alla miglior vaso-irradiazione giustificata dal comportamento cinetico di questi due genotipi.

**Tabella 10. Caratteristiche fisiche del petto e della coscia**

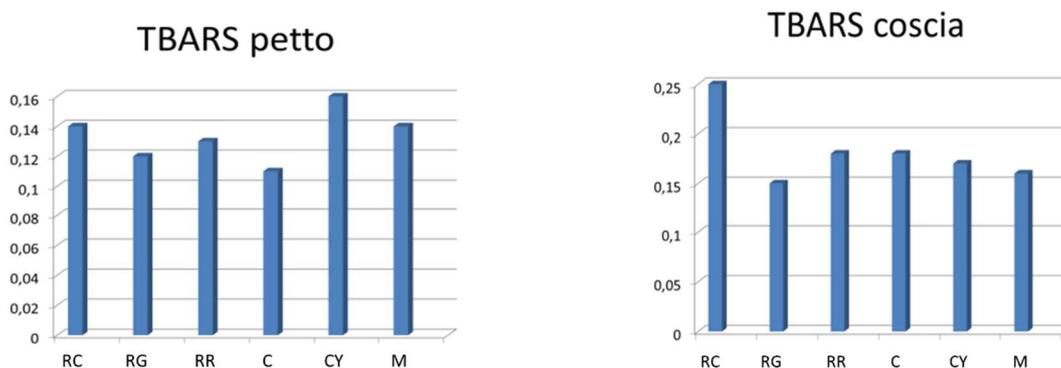
Petto		<i>RANGER CLASSIC</i>	<i>RANGER GOLD</i>	<i>ROWAN RANGER E</i>	<i>CAMPES x JA87</i>	<i>CY gen 5 M22 JA87</i>	x SEM	
	pH		5,62	5,90	5,68	5,81		5,66
Tenerezza		1,70	1,48	1,39	1,46	1,38	1,52	0,36
Capacità ritenzione idrica	%	55,3	55,8	54,6	54,4	55,0	55,5	1,25
Calo cottura	“	34,56 <sup>ab</sup>	30,80 <sup>a</sup>	33,12 <sup>a</sup>	33,26 <sup>a</sup>	32,5 <sup>a</sup>	34,23 <sup>ab</sup>	3,21
<b>Colore</b>								
L*		54,9	54,0	54,3	54,0	56,4	55,4	2,36
a*		3,84 <sup>a</sup>	3,36 <sup>a</sup>	4,10 <sup>b</sup>	4,61 <sup>b</sup>	3,86 <sup>a</sup>	3,32 <sup>a</sup>	1,02
b*		-2,30	-1,25	-1,90	-1,19	-1,62	-3,14	0,98
<b>Coscia</b>								
pH		5,95	6,20	5,97	5,96	6,12	6,13	0,23
Tenerezza		2,90	2,48	2,50	2,39	2,29	2,41	0,51
Capacità ritenzione idrica	%“	60,1	59,9	61,1	59,8	58,9	58,5	2,47
Calo cottura	“	34,25	33,18	34,36	35,95	33,2	33,68	2,31
<b>Colore</b>								
L*		56,1	57,8	55,9	55,5	56,2	56,7	2,43
a*		6,70	6,16	5,65	7,10	5,67	6,71	0,41



i genotipi M22 x JA87 e CY gen 5 x JA87 hanno mostrato elevati valori di TBARS nel petto, probabilmente dovuto alla presenza di grasso scarsamente protetto da un adeguato contenuto di molecole antiossidanti (bassi contenuti di  $\alpha$ -tocoferolo). Al contrario il genotipo Ranger Classic, ha mostrato una maggior ossidazione lipidica nella coscia, rispetto agli altri genotipi, giustificabile da un mancato bilanciamento tra spinta ossidativa (dovuto al movimento) e protezione antiossidante (assunzione di  $\alpha$ -tocoferolo), infatti il Ranger Classic, rispetto ai genotipi più cinetici (Ranger Rowan > Campese > Ranger Gold) ha presentato una inferiore assunzione di pascolo.

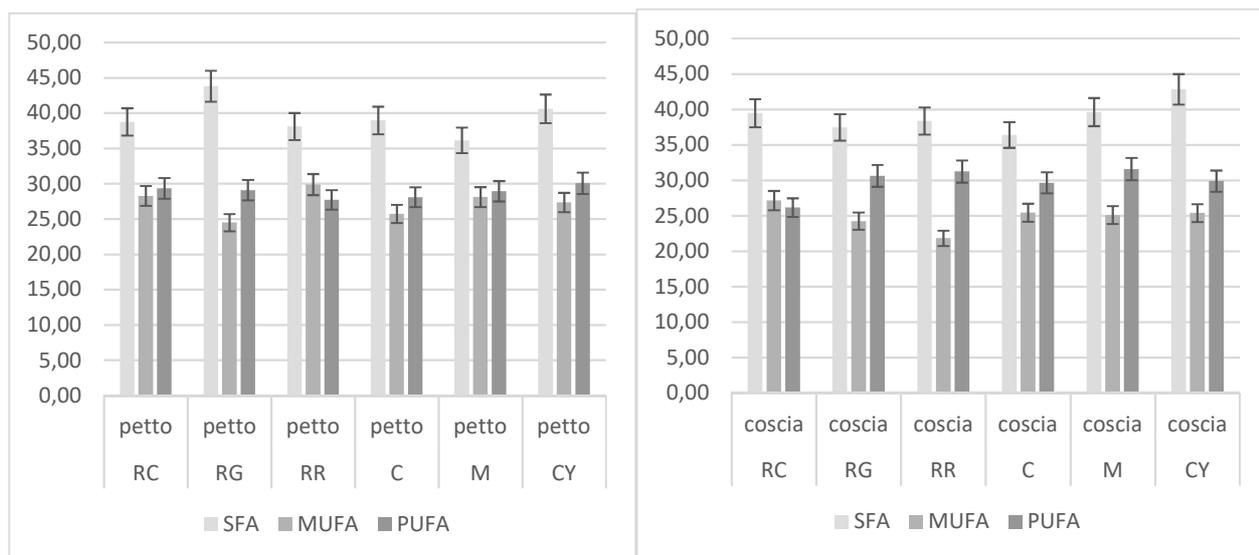


**Grafico 3. Contenuto di alpha-tocoferolo ( $\mu\text{g/g}$ ) del petto e della coscia. R1=Ranger Classic; R2=Ranger gold; R3=Rowan Ranger; A= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.**



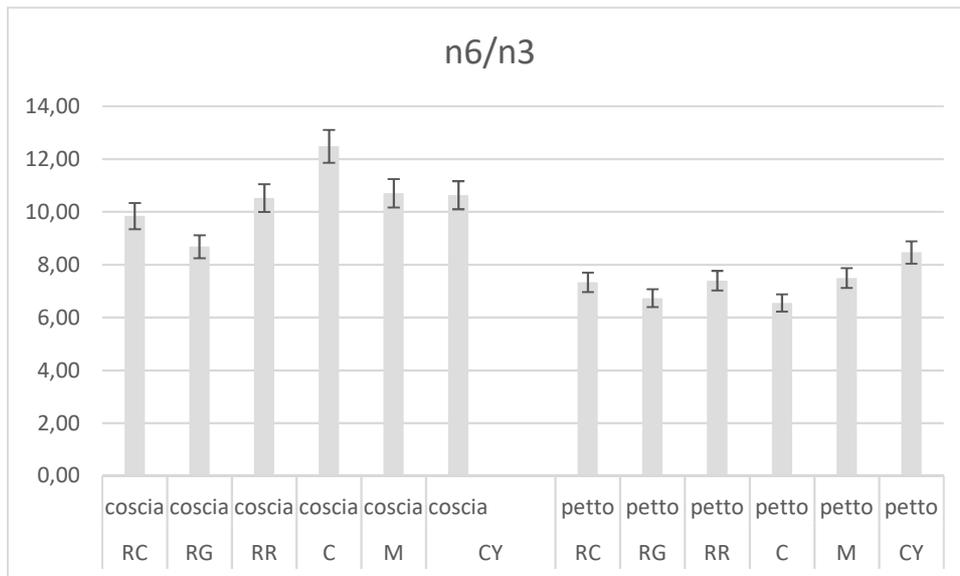
**Grafico 4. Stato ossidativo lipidico (TBARS,  $\mu\text{g MDA/g}$ ) del petto e della coscia. RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.**

Riguardo il profilo lipidico della carne non si sono evidenziate differenze significative circa il contenuto di acidi grassi polinsaturi (PUFA) del petto, e solo minori differenze si sono viste nella coscia (Ranger Classic < degli altri genotipi). Grande variabilità è stata riportata nel contenuto di acidi grassi monoinsaturi (MUFA): in particolare il Rowan Ranger mostrava valori minori sia nel petto che nella coscia rispetto agli altri genotipi (Grafico 5).



**Grafico 5. Profilo lipidico (SFA, MUFA, PUFA; % di acidi grassi totali) del petto e della coscia. RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.**

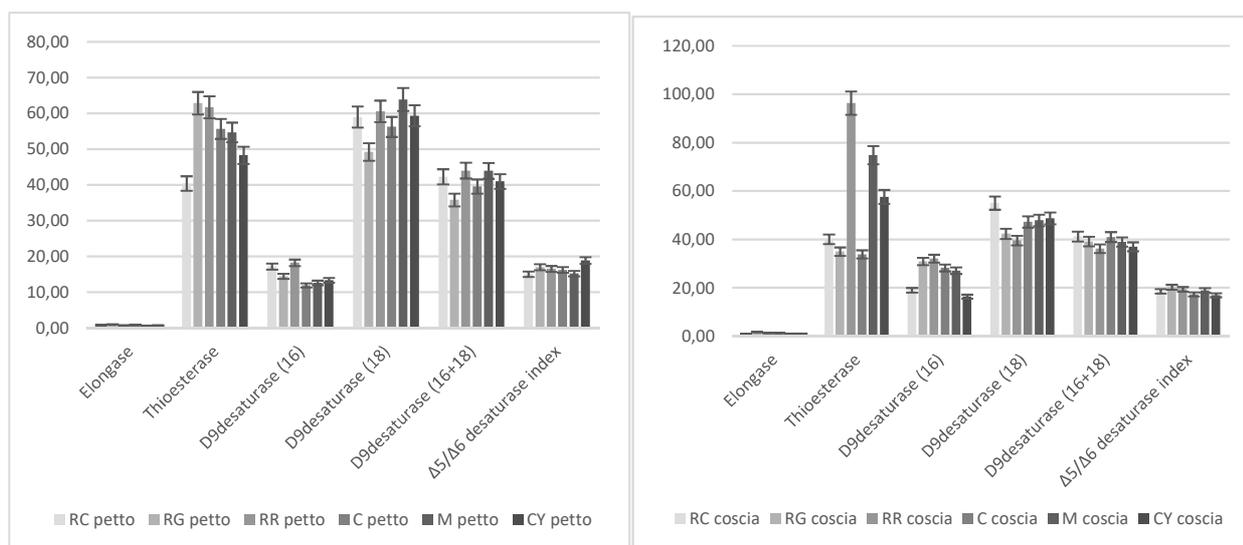
Interessante è il rapporto n-6/n-3 dei diversi genotipi (Grafico 6). Non si sono riscontrate differenze significative nel petto, anche se il Campese e il Ranger Gold mostravano un trend minore. Al contrario nella coscia, il Campese mostrava il valore più elevato ( $P < 0.05$ ), mentre il Ranger Gold quello minore. Tuttavia, è necessario sottolineare che tutti i genotipi in studio hanno raggiunto valori ottimali ( $>7$ ), in quanto vicini ai valori raccomandati dalla FAO (2015) per l'alimentazione umana.



**Grafico 6. Rapporto n6/n-3 del petto e della coscia. RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.**

La stima degli indici metabolici lipidici (Grafico 7), non ha mostrato differenze significative circa l'indice della  $\Delta 5/\Delta 6$  desaturasi nel petto, enzima implicato nella sintesi degli acidi grassi a lunga catena della serie n-3 ed n-6 (acidi grassi essenziali); mentre, in accordo con quanto riportato precedentemente sui MUFA, il ranger Gold mostrava valori inferiori di  $\Delta 9$  desaturasi (stimata sia da C18:0 che dal C16:0+C18:0), suggerendo una maggior attitudine biosintetica, intrinseca del genotipo. Ranger Classic presentava valori maggiori di  $\Delta 9$  desaturasi stimata a partire dal C18:0.

Infine, la tioesterasi mostrava valori minori nel petto del genotipo Ranger Classic. Riguardo alla coscia, Rowan Ranger presentava i valori più elevati, seguito da M22 x JA87 e CY gen 5 x JA87. Tuttavia, non vi sono chiare conclusioni circa l'attività di tale enzima, in quanto esso ha lo scopo di bloccare la sintesi degli acidi grassi a lunga catena, in assenza di substrato.



**Grafico 7. Indici metabolici lipidici del petto e della coscia. RC=Ranger Classic; RG=Ranger Gold; RR=Rowan Ranger; C= Campese; CY= CY gen 5 x JA87; M= M22 x JA87.**

## Risultati UO CREA-ZA

### Analisi delle performances produttive e della qualità

#### Analisi dei polimorfismi nei geni

L'obiettivo della linea di ricerca sviluppata nel laboratorio di genetica di CREA-ZA (sede di Monterotondo) ha riguardato la ricerca di polimorfismi in geni implicati con il metabolismo del glucosio e degli acidi grassi, e con lo sviluppo muscolare. Dopo un'analisi della letteratura scientifica sono stati individuati tre geni di interesse di studio: il *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PPARGC1A)*, che svolge un ruolo molto importante nel metabolismo del glucosio e degli acidi grassi, il *Growth differentiation factor-8 (GDF8)* e il *E3 ubiquitin-protein ligase (WWP1)*, che sono coinvolti nello sviluppo del muscolo scheletrico.

Il *PPARGC1A* è un gene candidato per caratteri legati alla qualità della carne, perché è un gene chiave di diverse vie metaboliche quali la termogenesi, l'ossidazione degli acidi grassi, la differenziazione degli adipociti, la gluconeogenesi epatica, la specializzazione delle fibre muscolari e l'assorbimento del glucosio. In una ricerca sviluppata utilizzando una razza locale cinese sono stati individuati polimorfismi associati con il tipo di miofibrilla (rossa o bianca) e con alcuni caratteri della carne (*shear force, intramuscular fat e water loss*). Questo gene si esprime principalmente nei mitocondri delle cellule muscolari e in umano l'espressione di questo gene è stata

associata agli adattamenti del muscolo scheletrico sottoposto a diverse tipologie di esercizi (resistenza vs velocità). È stato individuato anche un trascritto che regola la via metabolica della miostatina.

L'espressione del gene *GDF8* è stata associata in umano e in numerose specie animali d'interesse zootecnico (bovino, ovino, caprino, suino ecc) con il fenotipo ipertrofico. La proteina prodotta da questo gene, la miostatina, controlla, in modo negativo la differenziazione e lo sviluppo delle cellule muscolari. Attraverso un segnale a cascata controlla la loro divisione, e mutazioni nel gene *GDF8*, in diverse specie, sono state associate con isoforme della miostatina non funzionanti, di conseguenza le cellule muscolari si dividono in modo incontrollato e il risultato è un fenotipo ipertrofico e iperplastico.

Il gene *WWP1* gioca un ruolo importante nel *pathway* ubiquitina-proteosoma e l'ubichinazione è una delle modificazioni post-traduzionali delle proteine e tramite tale modificazione numerose funzioni cellulari sono controllate. Mutazioni in questo gene sono state associate con la distrofia muscolare, poiché la proteina prodotta da questo gene interagisce con il distroglicano, proteina indispensabile per la rigenerazione del muscolo scheletrico. In alcune linee genetiche di pollo giapponesi è stata individuata una mutazione non sinonima associata al fenotipo distrofico.

Quindi visto il coinvolgimento dei tre geni nello sviluppo, crescita e rifornimento energetico del muscolo scheletrico, a livello di DNA in alcune regioni, sono stati ricercati i polimorfismi da poter associare con i fenotipi rilevati dalle analisi sulle *performances* e sulla qualità della carne del CREA-ZA .

Il DNA è stato estratto da frammenti di carne del petto dei novanta polli delle sei linee genetiche oggetto di studio (Classic Ranger (CR), Campese Hubbard (C), Color Yield Hubbard (CY), Hubbard M22 (M), Ranger Gold (RG) e Rowan Ranger (RR)). Per ogni gene sono stati disegnati primers, utilizzando le sequenze depositate in banca dati pollo, da utilizzare per poter amplificare mediante reazione a catena della polimerasi (PCR), diverse regioni dei tre geni. Per il *PPARGC1A* sono stati amplificati due frammenti lunghi rispettivamente 341bp ( III esone e regioni fiancheggianti) e 813bp (VIII esone e regioni fiancheggianti); per il *GDF8* sono stati amplificati due frammenti lunghi rispettivamente 445bp (I esone e regioni fiancheggianti) e 448bp (III esone e regioni fiancheggianti), per il *WWP1* è stato amplificato un solo frammento lungo 880bp (X esone-X introne-XI esone).

I cinque frammenti all'inizio sono stati amplificati utilizzando il DNA di solo due animali, al fine di mettere a punto le condizioni di amplificazione e per verificare, tramite la funzione BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), la reale amplificazione del gene interesse di studio. Una volta verificate tali condizioni, i frammenti sono stati amplificati utilizzando il DNA di tutti gli animali reclutati per l'esperimento e successivamente sono stati sequenziati (mediante metodo Sanger) presso la ditta Eurofins Genomics. Le sequenze ottenute sui 90 animali sono state allineate utilizzando il software BIOLIGN al fine di individuare eventuali polimorfismi. Dall'allineamento sono risultati: 3 polimorfismi per il gene *PPARGC1A*, 9 polimorfismi per il gene *GDF8* e diciassette polimorfismi per il gene *WWP1*. Nelle seguenti tabelle sono riassunti per ogni gene: tipo di

polimorfismo, posizione e regione, cambiamento di aminoacido, frequenza dell'allele minore (MAF) e equilibrio di Hardy-Weinberg.

PPARGC1a					
Item	Type	Position-region	aa change	MAF	Hardy-Weinberg
SNP1	GT	45-II intron	-	0.384	YES
SNP2	CT	50-II intron	-	0.297	YES
SNP3	CT	208-III exon	GAC=Asp GAT=Asp	0.071	YES

GDF8					
Item	Type	Position-region	aa change	MAF	Hardy-Weinberg
SNP1	GA	60-I exon	GCG=Ala GCA=Ala	0.485	YES
SNP2	GA	195-I exon	CCG=Pro CCA=Pro	0.326	YES
SNP3	CG	208-I exon	CGC=Arg CGG=Arg	0.494	YES
SNP4	AG	234-I exon	AAA=Lys AAG=Lys	0.018	YES
SNP5	CT	324-I exon	GAC=Asp GAT=Asp	0.464	YES
SNP6	AT	5163-III exon	AGA=Arg AGT=Ser	0.226	NO
SNP7	GA	5164-III exon	GAT=Asp AAT=Asn	0.195	YES
SNP8	GT	5331- III exon	CCG=Pro CCT=Pro	0.043	YES

SNP9	CT	5501 - 3'UTR	-	0.063	YES
------	----	--------------	---	-------	-----

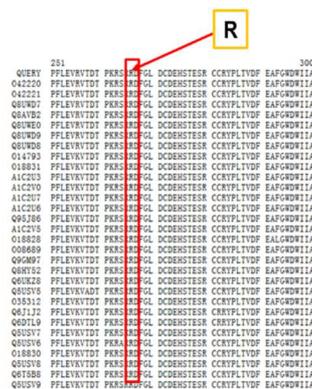
WWP1				
Item	Type	Position-region	MAF	Hardy-Weinberg
SNP1	CT	39054-X intron	0.280	YES
SNP2	CG	39064- X intron	0.085	YES
SNP3	GC	39180- X intron	0.110	YES
SNP4	TC	39183- X intron	0.311	YES
SNP5	GC	39234- X intron	0.488	YES
SNP6	AG	39297- X intron	0.090	YES
SNP7	CT	39298- X intron	0.410	YES
SNP8	GA	39383- X intron	0.386	YES
SNP9	TC	39436- X intron	0.386	YES
SNP10	CT	39436-X intron	0.018	YES
SNP11	GA	39453- X intron	0.500	YES
SNP12	CT	39467- X intron	0.476	YES
SNP13	GT	39470- X intron	0.012	YES
SNP14	AG	39563- X intron	0.201	YES
SNP15	GA	39591- X intron	0.247	YES
SNP16	CT	39619- X intron	0.191	YES
SNP17	TC	39627- X intron	0.189	YES

Nel gene *PPARGC1A* non sono stati individuati i polimorfismi già presenti in banca dati (polimorfismi associati nella razza locale cinese con caratteri della qualità della carne), e nel gene *WWP1* non è stato individuato il polimorfismo associato con la distrofia muscolare in una razza giapponese.

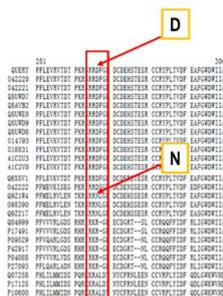
Tra i polimorfismi individuati solo due, presenti nel III esone del *GDF8* causano variazioni di aminoacidi non sinonime: 1) SNP6=Adenina5163Timina che corrisponde a Arginina(R) > Serina(S), non rispetta equilibrio di Hardy-Weinberg; 2) SNP7= Guanina5164Adenina che corrisponde a Aspartato (D) > Asparagina (N).

Per riuscire a capire se questi polimorfismi potessero influenzare la struttura e la funzione della proteina miostatina è stata eseguita un'analisi della sequenza proteica wild verso quella mutata utilizzando il software SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant). L'algoritmo di questo software utilizzando un megallineamento con le sequenze presenti in banca dati, prova a predire se la sostituzione dell'aminoacido può influenzare la funzione della proteina basandosi sull'omologia di sequenza e sulle proprietà fisiche degli aminoacidi.

L'analisi del SNP6 ha dato come risultato: la sostituzione in posizione 266 di un arginina con una serina sembra influenzare la funzione della proteina con uno score di 0.00. Le sostituzioni aminoacidiche sono predette essere deleterie quando lo score < .05. Nella figura seguente è rappresentato l'allineamento dove è messa in evidenza la posizione 266:

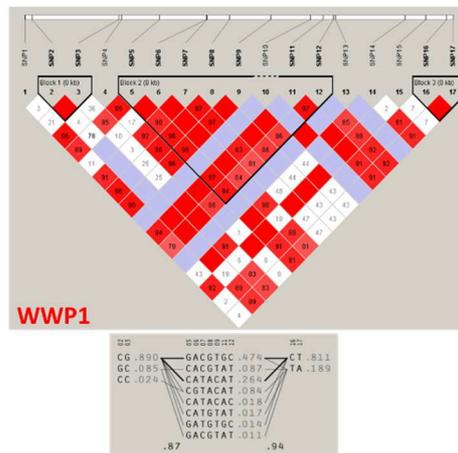
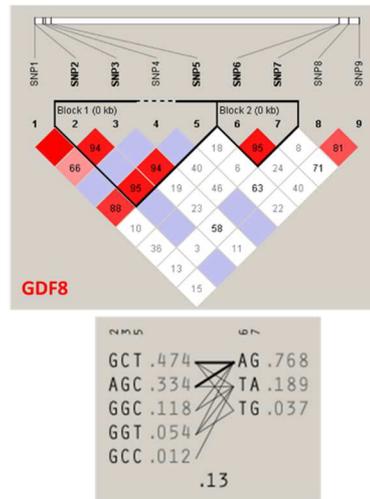
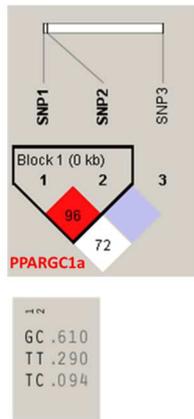


L'analisi del SNP7 ha dato come risultato: la sostituzione in posizione 267 di un aspartato con un'arginina sembra essere tollerata con uno score di 0.93. Le sostituzioni aminoacidiche sono predette essere deleterie quando lo score < .05. Nella figura seguente è rappresentato l'allineamento dove è messa in evidenza la posizione 267:



Tutti i polimorfismi sono stati utilizzati anche con il software Haploview per la costruzione degli aplotipi e il calcolo delle loro frequenze.

I risultati sono riportati nelle seguenti figure:



Infine è stata eseguita un'analisi statistica, utilizzando il software SAS, per individuare eventuali associazioni tra SNP6 e alcuni acidi grassi, rilevati dal laboratorio "qualità carne", nelle cosce e nel petto. Gli acidi grassi sono: C183n3 (ALA), C205n3 (EPA), C225n3 (DPA) e C226n3 (DHA). Per l'analisi di associazione è stato utilizzato un general linear model (GLM):  $y = \mu + \text{linea} + \text{GENO} + e$ , dove  $y$ =acidi grassi,  $\mu$ = media, linea=la linea genetica, GENO= il genotipo, e=errore.

Nella seguente tabella sono riportati i risultati dell'analisi di associazione:

Item	Fatty acid	N	LsM - MSE	Genetic lineage	Genotype	Effect of genotype	
						AA	AT
						P value	
LEG	C183n3	84	1.97 - 0.11	-	**	2.03 <sup>a</sup>	1.89 <sup>b</sup>
	C205n3	84	0.51 - 0.06	*		0.51	0.51
	C225n3	84	0.36 - 0.05	***	-	0.37	0.36
	C226n3	84	0.22 - 0.04	***	*	0.23 <sup>a</sup>	0.19 <sup>b</sup>
BREAST	C183n3	84	1.63 - 0.24	***	-	1.63	1.62
	C205n3	84	0.51 - 0.11	**	-	0.48 <sup>A</sup>	0.54 <sup>B</sup>
	C225n3	84	1.01 - 0.25	*	*	0.90 <sup>a</sup>	1.15 <sup>b</sup>
	C226n3	84	0.85 - 0.24	**	-	0.80	0.91
RED MUSCLE	C183n3	84	1.84 - 0.14	*	-	1.82	1.89
	C205n3	84	0.73 - 0.11	**	-	0.72	0.74
	C225n3	84	0.15 - 0.03	*	-	0.15	0.16
	C226n3	84	0.50 - 0.09	-	-	0.49	0.52
WHITE MUSCLE	C183n3	84	1.63 - 0.13	***	-	1.68	1.60
	C205n3	84	1.01 - 0.21	***	-	0.97	1.05
	C225n3	84	0.81 - 0.20	**	*	0.75 <sup>A</sup>	0.87 <sup>B</sup>
	C226n3	84	0.53 - 0.14	***	-	0.52	0.52

\* $\leq 0.1$ ; \*\* $\leq 0.01$ ; \*\*\* $\leq 0.001$ ; A,B  $\leq 0.20$ ; a,b  $\leq 0.05$ ; LsM: least square Mean; MSE: Mean Standard Error

L'analisi di associazione ha rilevato un effetto significativo del genotipo AT sul contenuto di C183n3 e C226n3 nelle cosce, e di C225n3 nel petto; e un effetto tendente alla significatività di C205n3 nel petto e di C225n3 nel muscolo bianco.

In via preliminare si può dire che le analisi dei risultati genetici hanno confermato il coinvolgimento del gene GDF8 nella crescita del muscolo e nel metabolismo energetico; il genotipo del gene GDF8 che causa una mutazione non sinonima non tollerata dalla proteina miostatina è stato rilevato solo nelle linee genetiche ipertrofiche e hanno mostrato una scarsa capacità di movimento.

## Task 2.2 Elaborazione degli indici di adattabilità

### UO DSA3 - UNIPG

Allo scopo di delineare le variabili che permettono di identificare un genotipo adatto all'allevamento biologico, è stato necessario svolgere un'analisi multicriteria (vedi Materiali e Metodi relazione 2). A tal proposito i dati raccolti nella prova sperimentale (relazione 1 e 2), sono stati utilizzati per effettuare:

1. un'analisi preliminare come mostrato nel Grafico 8 riportato nella Relazione 2. Che ha permesso di discriminare i genotipi in base alle variabili con comuni risultati.
2. l'identificazione delle variabili a "peso" maggiore: le variabili più rappresentative (comportamentale, fisiologica, qualitativa), semplici ed oggettive per la caratterizzazione dei genotipi a lento accrescimento adattati all'allevamento biologico.

3. procedere alla conferma della rappresentatività dei parametri selezionati nella realtà aziendale.

Sulle 189 variabili valutate da UNIPG nella prova sperimentale è stata eseguita una regressione multivariata, attraverso la quale sono state selezionate le variabili dipendenti di peso maggiore nel discriminare i genotipi avicoli ipoteticamente a “lento accrescimento” presi come soggetti dello studio. L'obiettivo è stato quello di trovare un set di variabili:

- Di numero limitato (n. <5);
- Poco dipendenti dalle condizioni di allevamento;
- Ripetibili;
- Facilmente rilevabili.

L'analisi è stata eseguita su 87 variabili dividendole nei macro-gruppi di parametri:

- ✓ Comportamento
- ✓ Benessere
- ✓ Struttura corporea
- ✓ Risposta fisiologica- ossidativa

Il macro-gruppo “qualità” è stato escluso in quanto eccessivamente dipendente dall'alimentazione, ed ha assorbito 102 variabili analizzate.

Per ogni macro-gruppo sono state identificate le variabili che assorbivano maggior variabilità.

Sono state confrontate le variabili risultanti e tra queste sono state scelte 3 variabili che meglio discriminavano i differenti genotipi studiati con la solita metodologia.

Per escludere che ci possano essere state interferenze (relazioni) dovute all'accrescimento (g/d) dei genotipi (e.g. alimentazione) le tre variabili sono state valutate anche considerando non i genotipi singoli ma un raggruppamento per accrescimento, considerando 43g come punto di flesso della curva di regressione

- fast >43 g/d

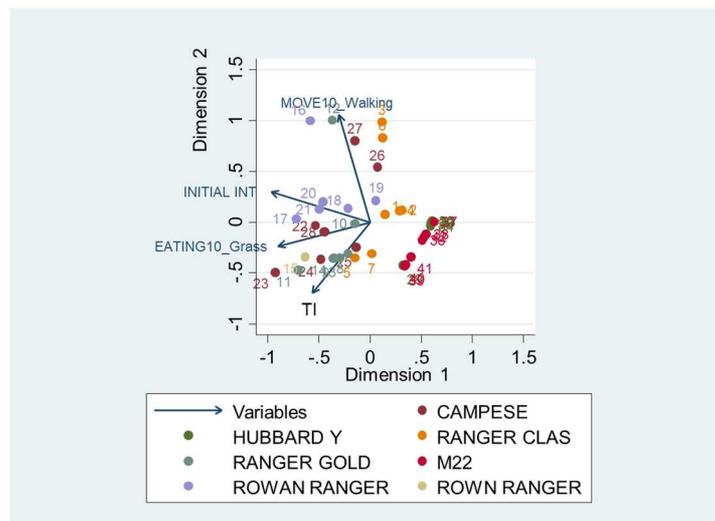
- medium/ slow <43 g/d

Infine, le variabili sono state testate su un dataset di differenti genotipi a disposizione da UNIPG

Nel Grafico 1 è riportata l'analisi delle componenti principali del macro-gruppo *comportamento*. Le variabili analizzate sono state 28 e ne sono state considerate 4 di peso maggiore:

- Initial Interest (n. animali / unità tempo)
- Camminare (% di tempo speso)

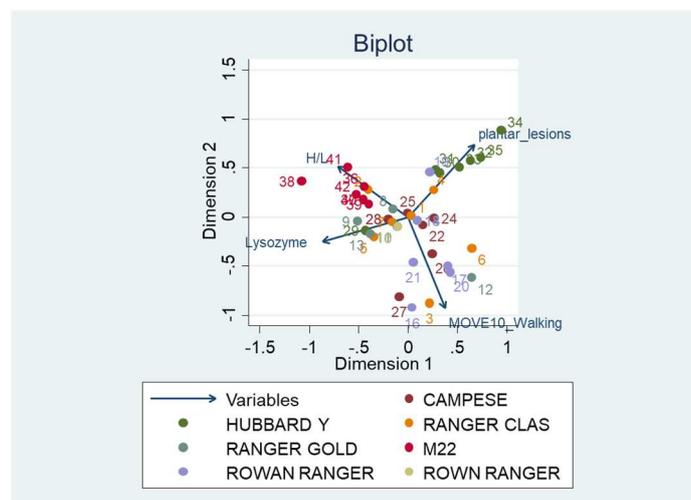
- Mangiare Erba (% di tempo speso)
- Tonic immobility (secondi)



**Grafico 1. PCA dei parametri appartenenti al macro-gruppo del comportamento**

Nel Grafico 2. è rappresentata l'analisi delle componenti principali del macro-gruppo *benessere*. Le variabili analizzate sono state 20 e ne sono state considerate 4 di peso maggiore:

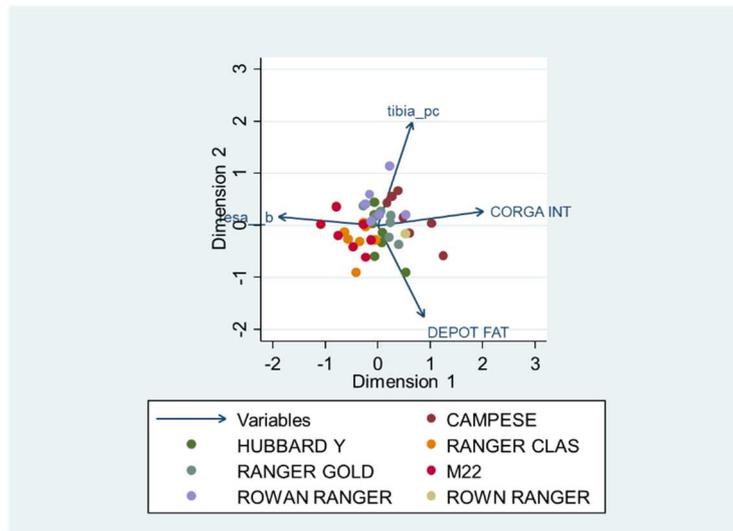
- Lesioni plantari (% in grado)
- Rapporto eterofili /linfociti (H/L)
- Lisozima (ug/mL)
- Movimento (% tempo speso)



### Grafico 2. PCA dei parametri appartenenti al macro-gruppo del benessere

Nel Grafico 3. è rappresentata l'analisi delle componenti principali del macro-gruppo *struttura corporea*. Le variabili analizzate sono state 25 e ne sono state considerate 4 di peso maggiore:

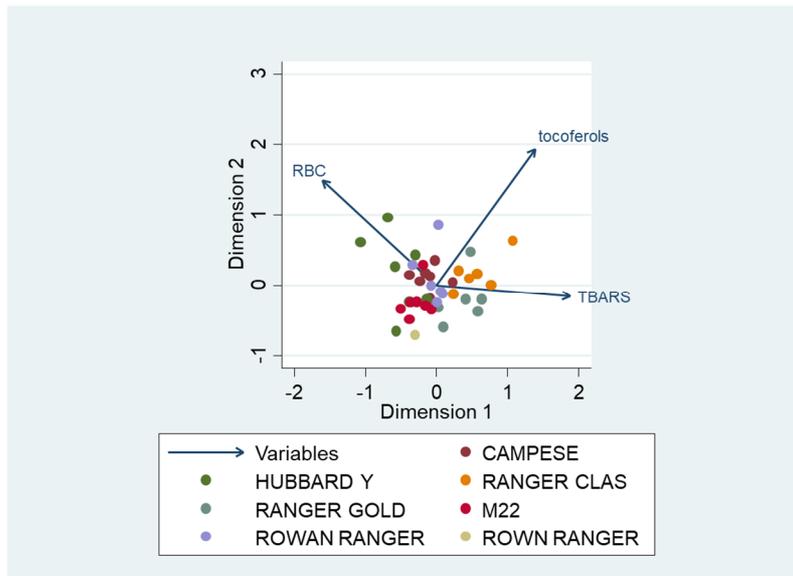
- Peso tibia/peso vivo animale
- Resa petto (%)
- Peso organi interni/peso vivo animale
- Grasso deposito (g)



### Grafico 3. PCA dei parametri appartenenti al macro-gruppo della struttura corporea

Nel Grafico 4. è rappresentata l'analisi delle componenti principali del macro-gruppo *risposta fisiologica-ossidativa*. Le variabili analizzate sono state 14 e ne sono state considerate 3 di peso maggiore:

- TOCOFEROLI plasmatici (nmol/mL)
- Ossidazione lipidica e/o proteica (TBARS, PCG) plasmatica (nmol/mL e nmol/mg di proteina, rispettivamente)
- Globuli rossi (RBC, %)

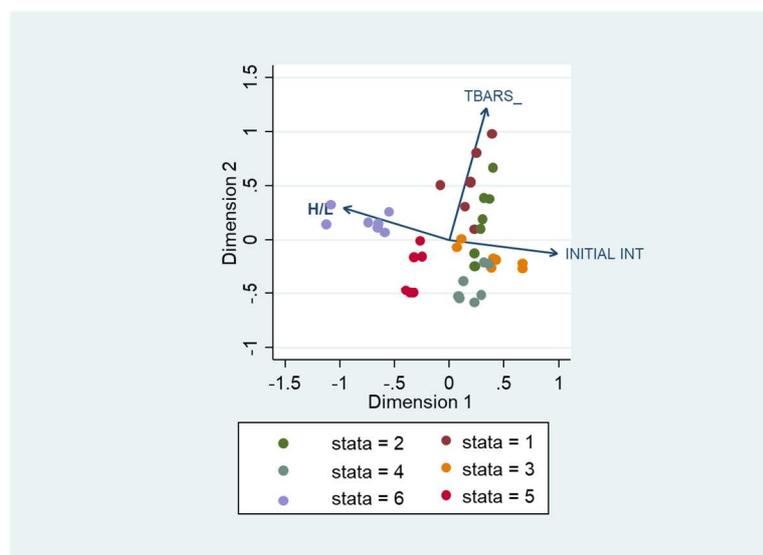


**Grafico 4. PCA dei parametri appartenenti al macro-gruppo della risposta fisiologica-ossidativa**

Al termine del confronto tra le variabili per macro-gruppi, le 3 variabili con peso maggiore (85,2% della variabilità, Grafico 5) sono risultate:

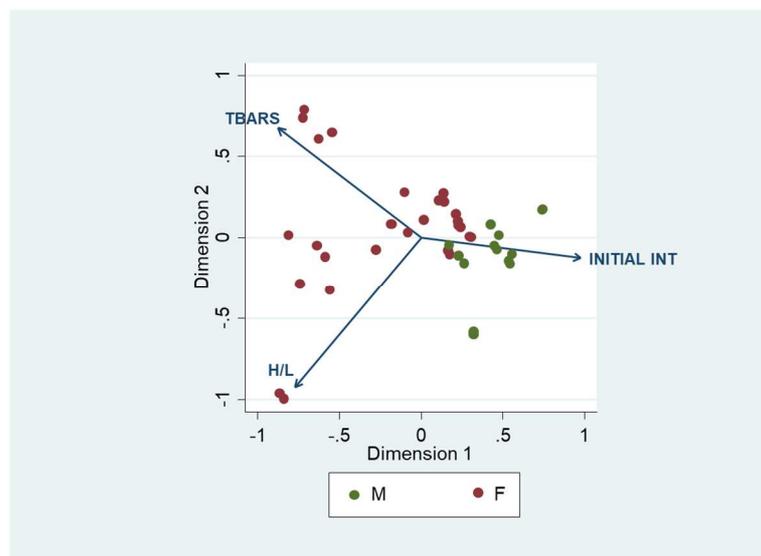
- INITIAL INTEREST (~ 40%)
- H/L (~ 20%)

OSSIDAZIONE (PROTEICA O LIPIDICA; ~ 10%)



**Grafico 5. PCA dei parametri appartenenti ai quattro macro-gruppi**

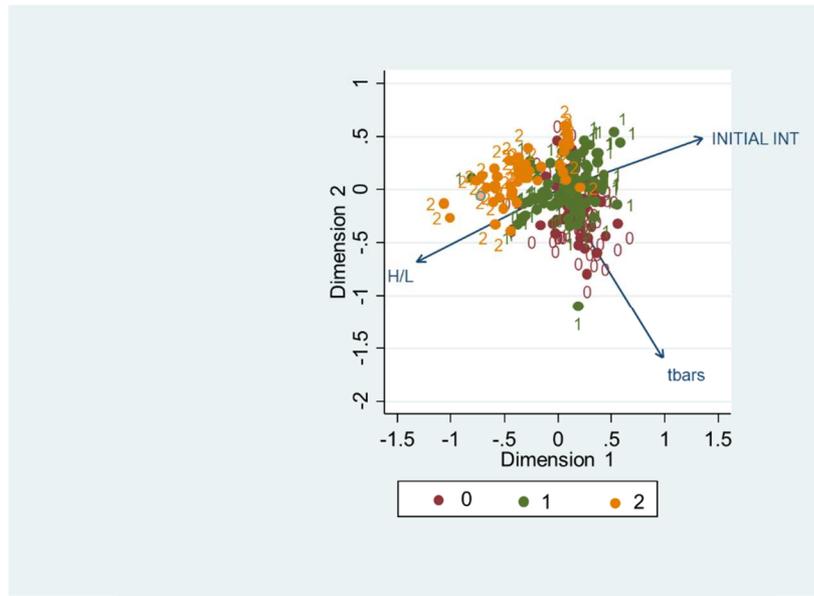
Per escludere una dipendenza delle variabili con l'accrescimento degli animali è stata eseguita una PCA (Grafico 6) raggruppando i genotipi studiati sulla base dell'accrescimento medio giornaliero in FAST (peso > 43g/d) e MEDIUM (peso <43g/d). Dal Grafico 6 si evince che i due gruppi sperimentali si ripartiscono in due posizioni differenti del grafico, l'accrescimento non influenza quindi le variabili scelte.



**Grafico 6. Risultato delle tre variabili sul raggruppamento dei genotipi in base all'accrescimento:**

**F= FAST (>43 g/d); M= MEDIUM/SLOW (<43 g/d)**

Le tre variabili sono state inoltre testate (Grafico 7) su vari genotipi allevati con lo stesso sistema di allevamento, e classificati secondo l'accrescimento in: VERY SLOW (Ancona, Livorno); SLOW/MEDIUM (Kabir, Gaina, Robusta maculata, Collo Nudo); FAST (Ross 308). Anche in questo caso i gruppi sperimentali si separano chiaramente nel grafico.



**Grafico 7. Risultato delle tre variabili testate su vari genotipi allevati con lo stesso sistema di allevamento.**

**Legenda:** 0= VERY SLOW (Ancona, Livorno) 1= SLOW/MEDIUM (Kabir, Gaina, Robusta maculata, Collo Nudo)  
2= FAST (Ross 308)

Lo Step finale delle valutazioni svolte sarà quello di delineare le variabili scelte come PARAMETRI e identificarne quindi dei RANGE di accettabilità attraverso un test delle variabili in una prova aziendale.

## UO CREA-ZA

L'indice elaborato dal CREA-ZA si basa sulla capacità motoria delle linee genetiche e quindi sulla capacità che ha l'animale di sfruttare a pieno il parchetto e il pascolo.

L'indice è stato elaborato partendo dall'analisi degli acidi grassi di due muscoli della coscia, il *M. iliotibialis lateralis postacebularis* (PIL) un muscolo bianco glicolitico e il *M. puboischiofemorale pars medialis* (PIFM) muscolo rosso ossidativo.

Sono stati presi in considerazione solo 5 acidi grassi:

- C16:0 Palmitic acid
- C18:3n3 ALA alpha-linolenic acid
- C20:5n3 EPA (eicosapentaenoic acid)
- C22:5n3 DPA (docosapentaenoic acid)
- C22:6n3 DHA (docosahexaenoic acid)

L'indice si basa su una formula che evidenzia il diverso consumo degli acidi grassi.

### Task 2.3 Validazione degli indici

Ad Aviagen e Hubbard è stato inviato il seguente protocollo per la rilevazione dell'indice elaborato. Si attendono i risultati per fine 2019.

## INDEX PROTOCOL

### 1. Collection

Pick up at random 15 Male Broilers over 70 days old from a homogeneous group in term of age and sex. The broilers can be picked up also at slaughtering of the entire group.

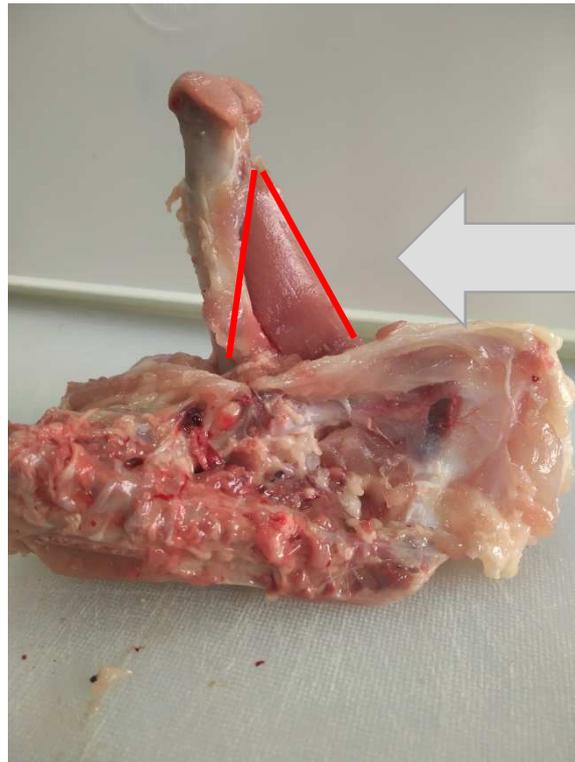
### 2. Dissection

Separate the right thighs of each broiler and numerate them from 1 to 15 and issect the following two muscles from the thigh of each broiler:

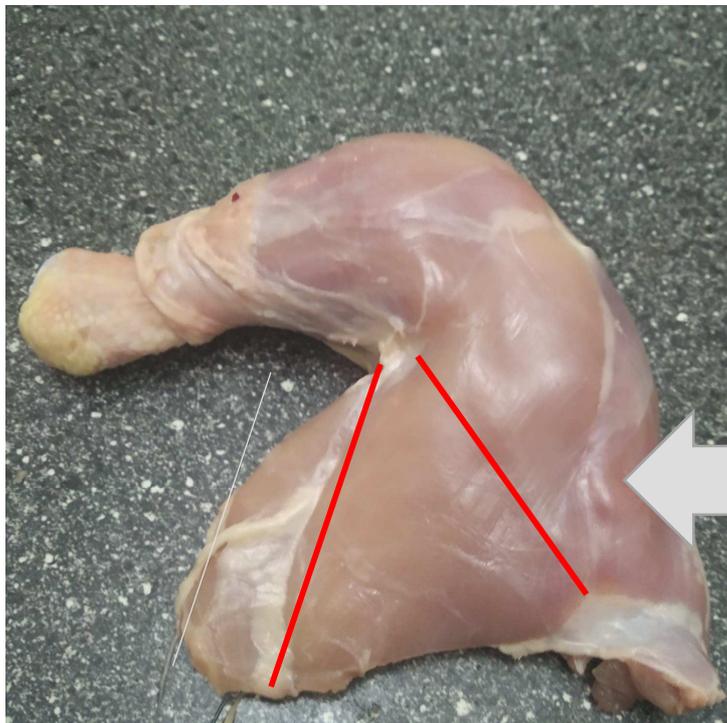
- *M. iliotibialis lateralis postacebularis* (PIL) White glycolytic muscle, tag W from 1 to 15
- *M. puboischiofemoralis pars medialis* (PIFM) Red oxidative muscle, tag R from 1 to 15



## White and red thigh muscles



Red muscle



White muscle



### 3. Analysis

Analyze the content of the following 5 fatty acids in both muscles for each broilers as % of total fatty acids content.

- C16:0 Palmitic acid
- C18:3n3 ALA alpha-linolenic acid
- C20:5n3 EPA (eicosapentaenoic acid)
- C22:5n3 DPA (docosapentaenoic acid)
- C22:6n3 DHA (docosahexaenoic acid)

### 4. Results

Fill the table

Broiler	Total Fatty Acids	C16:0	C18:3n3	C20:5n3	C22:5n3	C22:6n3
1W						
1R						
2W						

2R						
3W						
3R						
4W						
4R						
5W						
5R						
6W						
6R						
7W						
7R						
8W						
8R						
9W						
9R						
10W						
10R						
11W						
11R						
12W						
12R						
13W						

13R						
14W						
14R						
15W						
15R						



### 3.1.1 Allevamento maschi

A 48 giorni di età è stata operata la separazione tra maschi e femmine. Lo stesso giorno, grazie alle condizioni ambientali favorevoli gli animali hanno avuto accesso al parchetto esterno per la prima volta.

<b>Età</b> giorni	<b>Peso</b> gr	<b>Incremento</b> gr	<b>Alimento consumato</b> gr	<b>ICA</b>
<b>64</b>	1240	672	4610	3,72
<b>72</b>	1325	85	5630	4,23
<b>82</b>	1733	408	7400	4,23
<b>89</b>	2005	272	8890	4,40
<b>104</b>	2700	695	12000	4,50

Dal 64° giorno fino al giorno della soppressione, avvenuta a 104 giorni di età, è stata fornita ai polli maschi una razione miscelata in azienda composta per il 50% dal mangime utilizzato nel secondo periodo e per il restante 50% da mais sfarinato grossolanamente che riportava le seguenti caratteristiche principali:

<b>PG</b>	14,6
<b>Oli e grassi</b>	3,7
<b>FG</b>	7,6

Durante tutto il periodo della prova sono stati rilevati: peso, consumo alimentare, incremento, indice di conversione alimentare e mortalità.

<b>Età</b> giorni	<b>Peso</b> gr	<b>Incremento</b> gr	<b>Alimento consumato</b> gr	<b>ICA</b>
----------------------	-------------------	-------------------------	---------------------------------	------------

<b>2</b>	35			
<b>9</b>	81	46	120	2,68
<b>23</b>	253	172	520	2,44
<b>48</b>	568	315	2330	4,46



La mortalità, complessiva rispecchia la media di questa linea genetica

<b>Età</b> giorni	<b>Mortalità giornaliera</b> %
<b>1-12</b>	<b>0,53</b>
<b>12-23</b>	<b>0,23</b>
<b>24-32</b>	<b>0,42</b>
<b>32-104</b>	<b>0</b>

### **Produttività e Analisi qualità della carne dei maschi DUAL**

A 104° giorni di età 15 capi maschi, prelevati a caso dal gruppo, sono stati soppressi presso un mattatoio autorizzato e sono stati rilevati, peso vivo e peso morto come riportato in tabella:

<b>Campione</b>	<b>Peso Vivo Gr.</b>	<b>Peso morto Gr.</b>
<b>1</b>	2910,0	1937,3
<b>2</b>	2795,0	2039,7
<b>3</b>	2760,0	1803,8
<b>4</b>	2615,0	1835,5
<b>5</b>	2600,0	1985,1
<b>6</b>	2310,0	1582,9
<b>7</b>	2690,0	1899,5
<b>8</b>	2850,0	1962,3
<b>9</b>	3040,0	2115,4
<b>10</b>	2320,0	1641,6
<b>11</b>	2610,0	1774,9
<b>12</b>	2200,0	1532,6
<b>13</b>	2470,0	1707,7
<b>14</b>	2985,0	2098,5
<b>15</b>	2815,0	1929,1
<b>Media</b>	<b>2664,7</b>	<b>1856,4</b>

Gli animali hanno riportato un peso medio vivo di 2.664,7 grammi ed un peso medio della carcassa di 1.856,4 grammi con una resa media del 69,7 % contro la resa media del Campese 73,22 e del Rowan Ranger 75,32, linee genetiche a lento accrescimento paragonabili alla Dual allevate nella sperimentazione del WP2.

Dopo 24 ore, le carcasse sono state prelevate dal mattatoio e trasportate presso il laboratorio del CREA-ZA e sono stati effettuati sia la dissezione che rilevamento dei parametri produttivi (Tabella 6).

Dalla carcassa è stato separato il muscolo pettorale maggiore e la sovra coscia. Le analisi fisiche sono state condotte solo sul muscolo del petto e hanno riguardato: pH, colore, perdita di liquidi sul cotto e sul crudo e sforzo al taglio. Il profilo acidico, come anche SS; Ceneri; Grasso e Proteine ,sono state condotte su entrambe le porzioni (Tabella 7, 8 e 9).

I risultati sono stati messi a confronto con le medie dei risultati degli animali a lento accrescimento allevati nella prova sperimentale del WP2 più simili a questa linea genetica (Campese e Rowan Ranger).

<b>Campione</b>	<b>Resa %</b>	<b>Circonferenza Busto</b>	<b>Peso Coscia</b>	<b>Lung. Coscia</b>	<b>Larg. Coscia</b>	<b>Peso Fuso</b>	<b>Lung. Tibia</b>	<b>Peso Petto</b>	<b>Lung. Petto</b>	<b>Larg. Petto</b>
1	66,6	33,0	316,8	20,0	10,0	167,7	10,5	289,8	20,0	18,0
2	73,0	33,0	321,7	22,0	9,0	183,3	10,0	328,6	21,7	20,0
3	65,4	32,0	301,2	19,0	9,5	157,9	10,0	257,6	19,0	18,0
4	70,2	32,0	329,7	20,0	12,0	158,4	10,0	272,2	19,0	14,0
5	76,4	33,0	318,3	17,5	10,0	188,2	10,0	311,0	19,0	16,0
6	68,5	30,5	302,6	18,0	10,0	137,8	10,0	257,8	20,0	14,0
7	70,6	33,0	324,7	19,0	12,0	165,6	9,0	361,0	22,0	19,0
8	68,9	34,0	330,6	18,5	10,0	168,4	11,0	280,4	21,0	19,0
9	69,6	35,0	364,4	17,0	12,0	191,8	11,0	329,0	21,0	19,0
10	70,8	31,0	259,8	17,5	8,5	142,6	11,5	225,2	17,0	17,0
11	68,0	33,0	258,7	17,0	10,0	140,7	11,0	241,6	20,0	16,0
12	69,7	33,0	327,5	19,0	12,0	151,7	11,0	261,2	21,0	18,0
13	69,1	31,0	280,7	17,0	8,5	156,0	11,5	229,2	18,5	16,0

<b>14</b>	70,3	35,0	369,2	15,0	12,0	179,3	11,0	323,4	19,0	19,0
<b>15</b>	68,5	33,0	391,9	17,0	12,0	166,6	11,0	320,2	19,0	17,0
<b>MEDIA</b>	69,7	32,8	319,9	18,2	10,5	163,7	10,6	285,9	19,8	17,3

Tabella 7. Analisi fisiche e chimiche centesimali

<b>Petto</b>	Duplici attitudini (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.	<b>Petto</b>	Duplici attitudini (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.
pH	5.85	5.80	ns	SS%	25.89	26.14	ns
DRIP LOSS	1.42	0.95	*	Ceneri %	1.13	1.20	ns
COOKING LOSS	26.33	26.71	ns	Grasso %	1.33	1.20	ns
WBS cotto petto	<b>1.55</b>	1.38	*	Proteine %	23.44	23.74	ns
Luminosità	47.89	48.55	ns	<b>Coscia</b>	Duplici attitudini	Lento Accrescimento	Sign.
Indice Rosso	-2.82	-2.15	**	SS%	25.79	25.90	ns
Indice Giallo	<b>6.71</b>	4.00	**	Ceneri %	1.08	1.17	ns
Croma	<b>7.31</b>	4.64	***	Grasso %	3.64	3.96	ns
Tinta	113.68	120.95	ns	Proteine %	21.06	20.77	ns

\*\* P< 0,015

\*\*\* P< 0,01

Il genotipo Lohmann Dual rispetto confrontato con il genotipo a lento accrescimento ha mostrato una maggiore resistenza al taglio, con buona probabilità a causa dell'età di macellazione tardiva rispetto al genotipo a lento accrescimento macellato all'età di 81 giorni che ha consentito all'animale di muoversi e pascolare per più tempo. Il colore giallo significativamente rilevato, è da attribuirsi a fattori alimentari e genetici. Non significative le differenze tra SS-Ceneri-Grasso e Proteine.

**Tabella 8. Analisi chimiche nutrizionali petto**

	Duplica attitudine (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.		Duplica attitudine (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.
SFA	33.78	33.47	ns	C14:0	1.00	0.48	**
MUFA	<b>38.17</b>	37.40	*	C14:1	0.19	0.11	*
PUFA	25.75	26.69	*	C16:0	24.34	22.93	**
n6	23.23	23.87	ns	C16:1	4.59	3.39	**
n3	2.52	2.82	ns	C18:0	8.31	8.58	ns
n6/n3	9.39	8.60	ns	C18:1 cis 9	30.63	30.72	ns
P/S	0.76	0.80	ns	C18:1 cis 11	2.76	3.15	ns
				C18:2n6	16.63	18.85	*
				C18:3n6	0.14	0.15	ns
				C18:3n3	0.78	1.61	**
				C20:2n6	0.21	0.30	ns
				C20:3n6	0.57	0.68	ns
				C20:4n6	5.68	4.52	ns
				C20:3n3	0.07	0.10	ns
				C20:5n3	0.13	0.43	**

C22:5n3	0.95	0.88	ns
C22:6n3	0.58	0.70	ns
Altri	2.30	2.42	ns

**Tabella 9. Analisi chimiche nutrizionali coscia**

	Duplica attitudine (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.		Duplica attitudine (Lohmann Dual)	Lento Accrescimento	Sign.
SFA	32.18	31.93	ns	C14:0	0.67	0.67	ns
MUFA	40.32	40.55	ns	C14:1	0.18	0.18	ns
PUFA	25.29	25.22	ns	C16:0	23.29	23.32	ns
n6	<b>23.21</b>	22.85	*	C16:1	5.52	5.52	ns
n3	<b>2.07</b>	2.38	*	C18:0	8.08	7.94	ns
n6/n3	<b>11.31</b>	9.82	*	C18:1 cis 9	32.13	32.36	ns
P/S	0.79	0.79	ns	C18:1 cis 11	2.49	2.49	ns
				C18:2n6	19.40	13.31	ns
				C18:3n6	0.16	0.16	ns
				C18:3n3	1.11	1.23	ns
				C20:2n6	0.19	0.19	ns
				C20:3n6	0.32	0.32	ns
				C20:4n6	3.14	2.86	*
				C20:3n3	0.04	0.04	ns
				C20:5n3	0.08	0.20	*

C22:5n3	0.51	0.55	ns
C22:6n3	0.33	0.36	ns
Altri	2.22	2.30	ns

La presenza di una maggiore quantità di n6 e minor quantità di n3 nel genotipo Lohmann Dual, ha modificato il negativamente il rapporto n6/n3 che risulta più alto rispetto al lento accrescimento della sperimentazione. Le differenze sono probabilmente imputabili alla scarsa disponibilità di pascolo che il genotipo Lohmann Dual ha avuto a disposizione, in virtù della stagione di allevamento che ha avuto inizio e si è protratta nei mesi più freddi dell'anno e alla diversa alimentazione rispetto a quella dei genotipi sperimentati.

### **Analisi dei costi di produzione**

Nella tabella seguente sono riportate le variabili ed i dati utilizzati per il calcolo dei costi di produzione, i costi di realizzazione dei ricoveri non sono stati calcolati.

Peso iniziale	35 gr
Mortalità totale	8,00%
ICA (indice conversione alimentare)	4,5
Pulcini	203
Capi macellati	187
Produzione capo	1860 gr
Produzione totale	346,6 kg
Consumo alimentare totale capo	12000 gr
Durata ciclo	104 giorni
Incremento giornaliero	25 gr
Peso finale	2700 gr

	Quantità	Costo	Costo	Costo	Incidenza	
	U.M.	Totali	Unitario	Totale	Costo Kg	
Costi Variabili		€	€	€	%	
Pulcini	n°	203	0,50	101,5	0,29	5,1
Disinfettante	L	40,0	1,50	60,0	0,17	3,0
Richiamo vaccini	n°	560	0,15	84,0	0,24	4,2
Medicinali	n°	2	34,48	70,0	0,20	3,5
<b>Alimentazione</b>	<b>Kg</b>	<b>2292</b>	<b>0,35</b>	<b>802,2</b>	<b>2,31</b>	<b>40,2</b>
<b>Manodopera</b>	<b>Ore</b>	<b>47</b>	<b>7,79</b>	<b>364,3</b>	<b>1,05</b>	<b>18,3</b>
Energia	kWh	112,5	0,25	28,1	0,08	1,4
Trasporto A/R	n°	2	30,00	60,0	0,17	3,0
<b>Macellazione</b>	<b>n°</b>	<b>187</b>	<b>2,20</b>	<b>410,9</b>	<b>1,19</b>	<b>20,6</b>
Imballaggio e packaging	n°	187	0,08	14,9	0,04	0,7
<b>Totale Costi</b>				<b>1.996 ,00</b>	<b>5,76</b>	<b>100 %</b>

Il costo di produzione è di 5,56 € per Kg è alto ma bisogna tenere conto dell'elevata età di macellazione e dell'indice di conversione sfavorevole. Nonostante l'incidenza dei costi, il prezzo di vendita presso lo spaccio aziendale ha coperto i costi diretti di produzione con un margine netto del 35% .

### 3.1.2 Allevamento femmine

Al 48° giorno di età è avvenuta la separazione tra i sessi, fra le pollastre ne sono state scelte 100 e trasferite in un ricovero aziendale fornito di un ampio parchetto esterno per essere allevate come ovaiole.



Dal giorno della separazione, le pollastrelle sono state alimentate con un mangime completo al 17% di proteine fino al 112° giorno di età (16 settimana). Dalla 16 settimana di età sono state alimentate con un mangime completo di preparazione per ovaiole al 18% di proteine.

Dalla 21 settimana di vita è iniziata la produzione di uova inizialmente con guscio poco spesso e di taglia molto ridotta. Andando avanti con la deposizione, la grandezza delle uova è aumentata e si è consolidata la struttura del guscio. Oltre la somministrazione del mangime, le pollastre, hanno sempre avuto a disposizione il pascolo. Quotidianamente, si è provveduto a rilevare la produzione ed il consumo alimentare che sono stati aggregati come media settimanale nella tabella che segue. Quotidianamente, si è provveduto anche alla verifica delle condizioni generali di salute degli animali, per il momento la mortalità è stata nulla, fatta eccezione per un caso di predazione avvenuto il 03/09/2019 in cui si è registrata la morte di due capi.

Età	Età	Prod.settimanale totale	Media settimanale/capo	uova/capo/giorno	Consumo alimentare giornaliero/capo
settimane	giorni	n°	n°	n°	grammi
21	147	105	1,1	0,15	110

22	154	161	1,6	0,23	110
23	161	259	2,6	0,37	110
24	168	280	2,8	0,40	110
25	175	301	3,0	0,43	110
26	182	299	3,0	0,43	110
27	189	310	3,1	0,44	145
28	196	409	4,1	0,58	145
29	203	387	3,9	0,55	145
30	210	418	4,2	0,60	145
31	217	361	3,6	0,52	145
32	224	400	4,0	0,57	145
33	231	356	3,6	0,51	145
34	238	347	3,5	0,50	145
35	245	309	3,1	0,44	145
36	252	342	3,4	0,49	145
37	259	361	3,6	0,52	145
38	266	316	3,2	0,45	145
39	273	323	3,2	0,46	145
40	280	365	3,7	0,52	145

La produzione ha avuto un incremento importante dall'inizio della deposizione fino alla 28<sup>a</sup> settimana di vita.

In seguito la produzione si è attestata a 3,6 uova a settimana in media, quindi circa un uovo ogni due giorni. Il consumo alimentare si riferisce solo alla somministrazione di mangime, non tenendo in considerazione il contributo del pascolo.

A fine prova di produzione di carne Lohman DUAL è stata organizzata una giornata divulgativa presso l'azienda De Filippo che ha ospitato la prova sperimentale (vedi in calce alla relazione).

### **Task 3.2 Riconoscimento del sesso in Ovo**

La determinazione del sesso in Ovo è una pratica ancora poco utilizzata soprattutto a causa degli alti costi e delle perplessità sia etiche che produttive.

Al requisiti di un metodo efficace ed efficiente sono la precocità di diagnosi, quindi meno tempo e meno spese di incubazione, l'accuratezza nella determinazione del sesso, la velocità perché le uova in un incubatoio sono migliaia. Inoltre non deve avere impatti negativi sull'embrione e sulle performance delle ovaiole future e deve essere economicamente sostenibile.

Attualmente ci sono due metodi che sembrano promettenti. Entrambi individuano il sesso dell'embrione in modo da scartare l'uovo maschio.

Da un punto di vista etico invece di sopprimere un pulcino si sopprime un embrione quindi potrebbe non essere comunque accettato da una parte della popolazione che preferisce che si allevino entrambi i sessi. In alcuni Stati dell'Unione Europea sta incominciando una discussione sulla possibilità di introdurre il divieto di uccisione dei pulcini maschi delle ovaiole.

#### **Il metodo SELEGGT**

Il metodo, endocrinologico, si basa sulla determinazione del sesso in Ovo misurando il livello ormonale nel liquido allantoideo. Il metodo è applicabile solo dal 10° giorno di incubazione perché solo dopo questo tempo si osservano differenze significative nella concentrazione dell'estrone solfato. Il metodo consiste nel prelievo di liquido dall'uovo con un ago e un'analisi del campione con un kit ELISA per rilevare la concentrazione dell'estrone solfato.

Il metodo SELEGGT è abbastanza accurato (>98%) e ha una bassa perdita di schiusa (< 3%) ma l'analisi è lenta (richiede circa mezz'ora), considerando che un incubatoio contiene più di 100.000 uova al giorno, attualmente i costi sono molto alti, si sta pensando di ridurli attraverso l'automazione che dovrebbe essere pronta nel 2020.

Il metodo per il momento è disponibile solo per il marchio REWE, un'azienda tedesca che opera nella grande distribuzione. Dal 2018 le uova sono disponibili in alcuni punti vendita tedeschi.

## **Spettroscopia a infrarossi RAMAN**

Questo metodo è applicabile dal 3° giorno di incubazione, non ci sono prelievi dall'uovo però è necessario fare un foro del diametro di 12 mm nel guscio in corrispondenza della camera d'aria. Il metodo si basa su un raggio laser che fora il guscio, la spettroscopia individua attraverso il DNA il sesso e l'uovo viene richiuso.

Questo metodo è accurato e veloce (pochi secondi) ma il trattamento dell'uovo è difficile, le fasi per il momento non sono automatizzate e la velocità del processo non è ancora adeguata alle procedure dell'incubatoio. Le perdite sull'embrione anche in questo caso sono basse grazie alla camera d'aria.

## **WP4. Studio e analisi di nuovi alimenti proteici per l'avicoltura biologica**

La crescita della popolazione, stimata in 9 miliardi di persone nel 2050 e gli accresciuti livelli generali di benessere hanno innalzato la domanda di alimenti di alta qualità. Una stima della FAO prevede un aumento del 72% della domanda globale di carne (dal 2000 al 2030), del 50% di pesce d'allevamento (dal 2010 al 2030) pertanto nel 2030 si avrebbe un deficit di 60 milioni di tonnellate di mangimi proteici per soddisfare la richiesta.

In Unione Europea una crescente dipendenza dalle importazioni di alimenti proteici per mangimi crea delle incertezze economiche su tutto il settore, negli ultimi 5 anni il prezzo della soia (della quale il 70% è importata) è aumentato del 100% e quello della farina di pesce (65% dei consumi sono importati) 4 volte.

Gli insetti fanno parte stabile della dieta per circa 2 miliardi e mezzo di persone nel mondo e sono una parte importante della dieta di alcuni animali di allevamento (pollame, trote ecc). Le farine di insetti potrebbero essere quindi una fonte sostenibile e per ridurre i fabbisogni di alimenti proteici vegetali e quindi le importazioni in quanto l'allevamento degli insetti destinati all'alimentazione animale può essere attuato ovunque e addirittura integrato con la produzione agricola.

In Unione Europea attualmente le farine di insetti sono autorizzate solo per l'acquacoltura, per quanto riguarda le altre specie di allevamento il "feed ban" è il principale ostacolo per l'autorizzazione perché, secondo la DG Santé, ancora non ci sono tecniche specializzate e di facile utilizzo per il riconoscimento della specie di provenienza delle farine proteiche. Durante un workshop dell'IPIFF (Insects for Food and Feed, Opportunities for Tackling Societal Challenges), organizzato a maggio 2019 a Copenhagen, Il Presidente dell'associazione si è dimostrato fiducioso rispetto all'autorizzazione delle farine di insetti per l'alimentazione del pollame da parte dell'UE, sottolineando contemporaneamente la necessità di ricerca sui substrati per fornire basi certe ad una normativa specifica sul loro utilizzo, piuttosto che basarsi sulla normativa attuale sui mangimi.

Nonostante le difficoltà tecniche e le limitazioni normative, si può affermare che sia il mondo scientifico che quello produttivo siano pronti per l'utilizzo di mangimi a base di farine di insetti.

La composizione analitica degli insetti varia a seconda dell'ordine, della specie, della fase biologica e può essere modificata tramite l'utilizzo dei substrati.

Sono stati raccolti dati sulla composizione chimica, sul contenuto di acidi grassi, aminoacidi e vitamine da 60 lavori scientifici pubblicati scelti da oltre 150 lavori.

Il Regolamento CE 893/2017 ha introdotto l'utilizzo di 4 specie: *Acheta domestica*, *Tenebrio molitor*, *Hermetia illucens*, *Musca domestica* per cui sono stati presi in considerazione solo i dati relativi a queste 4 specie in un lavoro inviato e accettato dal convegno internazionale "INSECTA"

A titolo di esempio di forniscono alcuni dati:

la proteina grezza sulla sostanza secca raggiunge livelli compresi tra 68,33% negli adulti e 42,99% nelle pupe, con un coefficiente di variazione tra il 2 e il 31%.

Le pupe di *Tenebrio molitor* sono risultate prime per il contenuto di grassi (34,72%), in generale si può affermare che gli adulti hanno un contenuto di grassi inferiore.

Il contenuto di minerali e di ceneri è invece strettamente legato all'alimentazione.

Poiché il contenuto di ceneri può ridurre il valore nutrizionale del mangime, questo aspetto ha un notevole impatto nella formulazione della dieta per il pollame e per il bestiame in generale.

Il grande numero di dati e la loro dispersione entro le specie, le categorie e i substrati utilizzati necessita delle sperimentazioni mirate per avere dei mangimi bilanciati attraverso il giusto uso della specie, dello stadio di vita e dei substrati utilizzati per definire dei protocolli ottimizzati per specie animale di allevamento.

Gli insetti sono molto influenzati da fattori esterni e, relativamente alla composizione, l'alimentazione e i substrati di allevamento, i trattamenti ricevuti, i fattori climatico-ambientali ecc., possono rappresentare una grande fonte di variazione. Questo aspetto può essere considerato una debolezza dal punto di vista della categorizzazione e un limite da superare quando si vogliono includere gli insetti nei mangimi ma, al tempo stesso, anche un punto di forza. Si potrebbe infatti ottenere un valore nutritivo migliorato, costante e ben definito, agendo sui fattori ambientali durante la fase di crescita/allevamento degli insetti stessi. Quindi, implementando piani operativi e protocolli specifici dal punto di vista dell'alimentazione, dell'allevamento e della lavorazione, dovrebbe essere possibile ottenere un prodotto stabile e garantito.

Negli avicoli la farina di pesce potrebbe essere del tutto sostituita da farine di insetto (da sole o in associazione ad altre fonti proteiche) ma occorre tenere presente che l'uso delle specie testate potrebbe portare ad un aumento degli acidi grassi saturi (fattore considerato negativo per la nutrizione umana) e/o a sfavorevoli

rapporti fra gli acidi grassi della serie omega 6 e quelli della serie omega 3 (a vantaggio dei primi, e ciò è parimenti un fattore negativo ai fini della nutrizione umana). Tuttavia il ricorso a specie diverse e a combinazioni o miscele fra le stesse, nonché l'impiego di farine d'insetto solo in certe fasi dei cicli di allevamento degli animali in produzione zootecnica o solo per certe categorie produttive, potrebbe aiutare a contenere questi rischi e anzi contribuire a fornire diete con caratteristiche nutrizionali di pregio (acido laurico e palmitoleico, chitina ecc...). In termini di sostenibilità, quindi, l'impiego delle farine di insetto potrebbe portare ad una sostituzione pressoché totale della farina di pesce, soprattutto se si integrassero nelle diete fonti tradizionali (es. semi di lino) o alternative di omega 3, quali ad esempio, gli insetti acquatici, che hanno un profilo acidico diverso (Barroso et. al, 2014) o le micro-alghe, che sembrano essere fra i surrogati più promettenti e più in linea coi principi di un'agricoltura sostenibile e imperniata su principi di economia circolare (le stesse alghe, così come gli insetti possono essere ottenute su sottoprodotti e residui di altre lavorazioni del settore *agrifood*). Secondo la nostra analisi inoltre anche la quota di proteina grezza apportata dalla soia potrebbe essere significativamente ridotta. Si ricorda che le stime di produzione mondiale di soia per il 2018-2019 ammontano a 360 mln di tonnellate che la stragrande maggioranza di questa quota è destinata ad uso zootecnico. Va da sé che una riduzione anche del 10% di tale entità avrebbe ripercussioni tutt'altro che trascurabili in termini di risparmio idrico, riduzione di fertilizzanti e anticrittogamici, aumento della quota destinata a consumo umano diretto ecc. In definitiva, l'utilizzo degli insetti ha alcuni vantaggi che non possono essere ignorati; essi infatti non competono (almeno non necessariamente) con le risorse destinate ad uso umano, possono essere allevati su sottoprodotti o residui delle attività umane come bio-trasformatori efficienti e possono quindi convertire abbondanti quantità di residui in biomassa animale (ricca di proteine e adatta all'alimentazione animale) a basso costo. In confronto alla produzione di soia, che è in gran parte orientata verso l'alimentazione animale, gli insetti richiedono meno risorse naturali (cioè terra, acqua, fertilizzanti).

## Incontri, seminari, convegni

### Evento n.1

Luogo dell'evento: **Azienda Agraria Artuffo (AT) e Centro Cereali Carmagnola (TO)**

Titolo dell'evento: **La coltivazione della soia biologica e la gestione delle infestanti**

Tipologia: **Seminario on farm**



Seminario sulla gestione delle infestanti su soia e girasole presso l'azienda agricola biologica Artuffo Agostino di Tonco (AT), e sull'utilizzo dell'Aerostar Rotation della ditta Einbock.

Seminario sulla conservazione delle materie prime, sulle analisi da effettuare e sui rischi delle contaminazioni da aflatossine e DON presso il Centro Cereali Carmagnola.



Visita all'azienda agricola biologica Cavaglia (TO) su campi coltivati a mais e soia per discutere la gestione delle infestanti.

## Evento n. 2

Luogo dell'evento: Azienda Agraria Di Filippo, Cannara (PG)

Titolo dell'evento: La duplice attitudine carne e uova: un'opportunità per le aziende miste

Tipologia: Divulgazione risultati e visita azienda



### TIPIBIO

Genotipi avicoli adatti all'allevamento biologico e filiere proteiche avicole biologiche integrate

14 maggio 2019 - Giornata *on-farm*

#### La duplice attitudine carne e uova: un'opportunità per le aziende miste

Uno degli obiettivi del Progetto del CREA "TIPIBIO" riguarda la ricerca di alternative alla soppressione dei pulcini maschi delle linee genetiche da uova. Al momento esistono delle tecniche per la determinazione del sesso all'interno dell'uovo, ma queste tecniche sono ancora molto costose e sperimentali, pertanto non sono diffuse tra i produttori di ovaiole. L'alternativa produttiva è quella di usare linee genetiche a duplice attitudine. La produttività di queste linee genetiche è inferiore a quella delle linee specializzate, soprattutto nella produzione di carne da parte dei maschi, ma la qualità è altissima. L'alta qualità rappresenta un punto di forza e un valore aggiunto nelle aziende miste e/o multifunzionali che normalmente non hanno un bacino di utenza esteso a livello nazionale, ma una clientela molto attenta alla produzione locale, aziendale e a km zero. La prova di allevamento è stata fatta con la DUAL Lohmann, una linea genetica a duplice attitudine con caratteristiche produttive interessanti e forte rusticità presso l'azienda vinicola biologica Di Filippo in provincia di Perugia. Durante la giornata "on farm" verranno illustrati tutti gli elementi caratterizzanti la prova, compresi quelli economici, con comparazioni con linee genetiche specializzate e visita all'azienda.

#### Programma

10:00	Monica Guarino Amato - CREA. Introduzione al progetto
10,30	Giovanna Riviaccio - PQAI I Mipaaf.
10,45	Gianluca Selva - Lohmann Italia. La nascita della Dual e novità sul sessaggio in ovo.
11:00	Francesco Cenci - CREA. Produttività e costi di produzione.
11:15	Alice Cartoni Mancinelli - Università di Perugia. Il benessere come valore aggiunto.
11:30	Michela Contò - CREA. La qualità della carne.
11:45	Visita all'allevamento con intervento del proprietario e dibattito
13:00	Pranzo

Di Filippo Azienda Agraria Vocabolo Conversino, 153 06033 Cannara (PG) Tel. +39 0742 73 12 42

Progetto TIPIBIO: Monica Guarino Amato [monica.guarinoamato@crea.gov.it](mailto:monica.guarinoamato@crea.gov.it)



In allegato gli interventi della giornata on farm.

## Sostegno all'Ufficio PQAI I - MIPAAFT per l'applicazione della normativa e della sua evoluzione

### Documenti elaborati e inviati all'Ufficio PQAI I MIPAAFT

N°	Data	Riferimento	Contenuto
1	17/02/2017	Mail PQAI I	Parere sull'articolo "Mutilazioni" del testo della Presidenza del Consiglio UE del 13/012/2017
2	02/03/2017	Mail PQAI I	Parere su un quesito posto al PQAI I sulla norma del regolamento relativa all'Estensione significativa dell'azienda" Reg. 889/2008 art. 9.4
3	11/03/2017	Mail PQAI I	Parere su un documento elaborato dal PQAI I sul significato di "estensione significativa dell'azienda"
4	21/03/2017	Mail PQAI I	Parere su un quesito posto al PQAI I dall'Ispettorato su alcune strutture utilizzate in allevamenti di ovaiole biologiche
5	27/03/2017	Riunione presso PQAI I	Revisione di una proposta di disciplinare per "Pet Food" biologico
6	18/04/2017	Mail PQAI I	Commenti al testo di compromesso della Presidenza del Consiglio UE del 12/04/2017
7	08/05/2017	Mail PQAI I	Parere sull'immuno-castrazione dei suini
8	11/05/2017	Mail PQAI I	Parere su una richiesta posta pervenuta al PQAI I relativa alla proposta di criterio di definizione di "Avicoli a lenta crescita"

9	05/06/2017	Mail PQAI I	Parere sul Dossier relativo alla richiesta di introduzione del Propionato di calcio e di sodio negli allegati del Regolamento 889/2008
10	21/06/2017	Mail PQAI I	Commenti alle modifiche al testo di compromesso presentate presso la riunione della Presidenza del Consiglio UE del 21/06/2017
11	27/06/2017	Mail PQAI I	Commenti al testo di compromesso della Presidenza del Consiglio UE del 22/06/2017
12	12/07/2017	Mail PQAI I	Parere sui sostitutivi del latte in zootecnia biologica
13	20/10/2017	Tavolo tecnico permanente sull'agricoltura biologica presso MIPAAFT	Revisione del Disciplinare Nazionale Consiglio Biologico
14	12/11/2017	Mail PQAI I	Commenti alla Proposta di Regolamento dopo il "legal check".
15	17/11/2017	Mail PQAI I	Linee genetiche a lento accrescimento: decreti di riconoscimento e parere su autorizzazione in agricoltura biologica
16	29/11/2017	Mail PQAI I	Revisione e commenti sulla proposta di Disciplinare Nazionale Consiglio Biologico
17	29/11/2017	Mail PQAI I	Parere su alcune modifiche del DM 18354 Agricoltura Biologica
18	29/11/2017	Mail PQAI I	Implicazioni relative al nuovo DM agricoltura biologica e l'allevamento di pollastrelle biologiche
19	19/01/2018	Riunione presso MIPAAFT	Revisione Disciplinare Consiglio biologico

20	01/02/2018	Tavolo tecnico permanente sull'agricoltura biologica presso MIPAAFT	Revisione del Disciplinare Nazionale Coniglio Biologico
21	20/02/2018	Mail PQAI I	Revisione alla parte zootecnica della "revisione linguistica del Nuovo regolamento"
22	17-18/04/2018	UE Committee on Organic Production	Supporto alla delegazione italiana per gli <i>Implementings acts</i> del Regolamento 848/2018
23	04/06/2018		Documento per la discussione COP del 5-6/6/2018
24	5-6/06/2018	UE Committee on Organic Production	Supporto alla delegazione italiana per gli <i>Implementings acts</i> del Regolamento 848/2018
25	15/06/2018	Riunione di coordinamento presso MIPAAFT	Coordinamento della riunione su: "Posizione italiana sugli Implementigs Acts on Poultry del Regolamento 848/2008"
26	28/06/2018	Mail PQAI I	Parere su una Tabella proposta dalla Commissione UE sugli "Implementing acts for poultry" in relazione alle risultanze della riunione del 15/06/2018.
27	24/09/2018	Riunione di coordinamento presso MIPAAFT	Coordinamento della riunione su: "Posizione italiana sugli Implementigs Acts on rabbit production del Regolamento 848/2008"
28	26/09/2018	Mail PQAI I	Parere sulle fonti di Vitamina B2 non OGM
29	5/10/2018	Mail PQAI I	Parere sul documento MIPAAFT "ITcomment_B-4 production rules poultry and quails"
30	31/10/2018	Mail PQAI I	Parere su un progetto di regola tecnica "Direttiva sull'etichetta di qualità AMA - allevamento delle galline ovaiole"

31	09/11/2018		Parere sul carbone vegetale da legname non biologico
32	26/11/2018		Lettera per la Commissione UE sugli allevamenti di ovaiole in pollai multistrato
33	28- 29/11/2018	UE Committee on Organic Production	Supporto alla delegazione italiana per gli <i>Implementings acts</i> del Regolamento 848/2018
34	03/12/2018		Riassunto decisioni COP Novembre e azioni da attuare
35	22/01/2019		Parere su documento MIPAAFT sulle rotazioni nelle aree all'aperto per gli avicoli
36	22/01/2019		Parere sul Documento della Commissione UE "Production rules amending"
37	23/01/2019		Parere sui documenti della Commissione UE "Production rules Act and Annexes"
38	30- 31/01/2019	UE Committee on Organic Production	Supporto alla delegazione italiana per gli <i>Implementings acts</i> del Regolamento 848/2018
39	12/02/2019		Parere sui documenti della Commissione UE "Production rules Act and Annexes"
40	13/02/2019		Proposta di regole di produzione sul coniglio per il regolamento 848/2018 in alternativa a quelle proposte dalla Commissione UE
41	15/02/2019		Valutazione delle proposte di Francia e Olanda sul periodo di transizione per la produzione di pollastrelle biologiche
42	25/02/2019		Parere sui documenti della Commissione UE "Production rules Act and Annexes"
43	15/03/2019		Documento su "Verande e area utilizzabile" nel pollame

