



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

DIPARTIMENTO DEMETRA, settore di Produzioni Animali

Dottorato in Agro-Ecosistemi Mediterranei

**Effetti della dieta su utilizzazione nutrizionale,
risposte metabolico-ormonali, produzione e qualità
del latte di capre Girgentane a diversa attitudine genetica
alla sintesi di α_{S1} -caseina**

Settore scientifico disciplinare AGR/19

DOTTORANDO

Dott. Vincenzo Bellina

COORDINATORE DEL DOTTORATO

Prof.ssa Adriana Bonanno

TUTOR

Prof.ssa Adriana Bonanno

XXIII CICLO - ANNO ACCADEMICO – 2009-2011

DOTTORATO



INDICE GENERALE

1. Introduzione	1
2. Il settore caprino e la capra Girgentana	3
2.1. Analisi del comparto caprino	3
2.2. Tra mito e leggenda	4
2.2.1. La razza Girgentana	6
2.2.2. Salvaguardia e valorizzazione	7
3. Qualità e polimorfismo caseinico del latte di capre	9
3.1. Il latte	9
3.2. La frazione proteica del latte caprino	11
3.2.1. Polimorfismo genetico delle caseine	13
3.2.2. Influenza del polimorfismo per l' α_{S1} -CN sulle caratteristiche del latte caprino	17
3.3. La componente acidica del grasso del latte	20
4. PARTE SPERIMENTALE	26
4.1. <i>Abstract</i>	26
4.2. Introduzione	28
4.3. Materiali e Metodi	30
4.3.1. Animali e disegno sperimentale	30
4.3.2. Rilievi, campionamenti ed analisi	31
4.3.3. Analisi statistica	35
4.4. Risultati e discussione	35
4.4.1. Ingestione alimentare e digeribilità	35
4.4.2. Indicatori metabolici, ormonali e dello stress ossidativo	37
4.4.3. Produzione e composizione del latte	39
4.4.4. Profilo caseinico del latte	41
4.4.5. Attitudine alla coagulazione del latte	43
4.4.6. Profilo acidico del grasso del latte	43
4.5. Conclusioni	47

5. Indice Bibliografico	65
6. Pubblicazioni	79

1. INTRODUZIONE

I fattori alimentari e genetici sono i principali responsabili dei cambiamenti che avvengono a carico del latte dei ruminanti, influenzandone le proprietà casearie, organolettiche e salutistiche.

La componente genetica rappresenta la variabile ereditaria individuale capace d'influenzare la produzione e la composizione del latte in modo diverso anche all'interno della stessa razza e nelle medesime condizioni di allevamento.

Numerosi studi sui polimorfismi lattoproteici della capra hanno messo in evidenza, per il gene che codifica per l' α_{S1} -CN, ben 17 differenti alleli a questo locus (Sacchi *et al.*, 2005; Todaro *et al.*, 2010; Valenti *et al.*, 2010).

Questo aspetto, di peculiare intensità nella specie caprina, ha conosciuto nell'ultimo decennio un'attenzione crescente da parte della comunità scientifica internazionale in virtù dell'effetto attribuito a questo polimorfismo sulle modificazioni che avvengono a carico della composizione e delle proprietà tecnologiche del latte di capra.

D'altra parte, il fattore alimentare condiziona notevolmente sia l'espressione che l'intensità con cui si manifestano alcuni caratteri.

Anche se gli effetti nutrizionali e genetici sulla qualità del latte di capra sono ben conosciuti, sono pochi gli studi che abbiano verificato l'impatto dell'alimentazione sul latte proveniente da capre caratterizzate da un differente genotipo lattoproteico.

Negli ultimi anni, comunque, gli studi sulle eventuali relazioni tra il regime alimentare e il polimorfismo per l' α_{S1} -CN delle capre, hanno messo in evidenza come gli individui omozigoti per gli alleli forti dell' α_{S1} -CN presentino una maggiore efficienza nell'utilizzo della componente proteica della dieta (De la Torre Adarve *et al.*, 2009), e una migliore risposta a maggiori apporti energetici (Pagano *et al.*, 2010a), rispetto a quelli con alleli deboli.

Questo lavoro di tesi si inserisce in una linea di ricerca, nell'ambito di un progetto PRIN, finalizzata allo studio delle relazioni che intercorrono tra il genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e l'alimentazione.

L'attività di ricerca oggetto di questa tesi, si è posta l'obiettivo di verificare il legame esistente tra il livello nutrizionale della dieta e le caratteristiche quanti-qualitative del latte prodotto da capre Girgentane in funzione del loro genotipo per l' α_{S1} -CN. Per meglio monitorare lo stato nutrizionale e metabolico degli animali nel corso della lattazione si è deciso di utilizzare, così

come riportato da Di Trana *et al.*, (2006), alcuni biomarcatori dello stress ossidativo, in virtù dell'azione regolatrice svolta da quest'ultimo sull'attività metabolica di alcuni organi, e delle conseguenti ricadute sulla produttività degli animali in allevamento.

Le indicazioni che possono trarsi da questa ricerca indirizzerebbero utilmente il lavoro di selezione delle razze caprine affinché questo miri, oltre alla massima produzione quantitativa degli animali, anche all'affermazione di genotipi la cui efficienza produttiva si possa esprimere in sistemi sostenibili che svolgano un ruolo di protezione per l'ambiente, per le minori emissioni azotate, e per l'ottenimento di prodotti lattiero caseari di elevato valore nutrizionale e salutistico.

2. Il settore caprino e la capra Girgentana

2.1. Analisi del comparto caprino

La capra sin dalla sua domesticazione avvenuta circa 1000 anni fa in Medio Oriente (Pringle, 1998), è stata utilizzata dall'uomo per la produzione di latte, carne, pelle e fibra. Oggi l'allevamento della capra rappresenta un'importante risorsa economica nei Paesi in via di sviluppo (FAO, 2007) mentre nei Paesi sviluppati esso è in gran parte relegato in aree marginali, dove può ancora svolgere un ruolo nelle attività agricole a basso impatto.

In Italia si contano circa 960.000 caprini (ISTAT, 2009), in gran parte meticci, concentrati nelle isole maggiori e nelle regioni meridionali. L'attitudine prevalente è la produzione di latte utilizzato in gran parte per la trasformazione casearia, anche se recentemente i consumatori hanno mostrato un rinnovato interesse verso il latte alimentare, altamente digeribile e ricco di sostanze minerali.

Il comparto si caratterizza per una certa arretratezza tanto che, rispetto all'esiguo numero di animali allevati, piuttosto bassi risultano gli animali sottoposti ai controlli funzionali; infatti, solo meno di 73.000 lattazioni vengono regolarmente monitorate (AIA, 2009) (Marletta e Bordonaro, 2011).

Il settore zootecnico siciliano ha mostrato, nell'ultimo decennio, una significativa riduzione degli allevamenti dei piccoli ruminanti, sia ovini che caprini. Questi hanno sempre rappresentato un'attività idonea a consentire l'utilizzo di aree marginali nelle quali le caratteristiche pedo-morfologiche e climatiche hanno impedito lo sviluppo di un'attività agricola e zootecnica più intensiva. Tali condizioni hanno determinato un ritardo nello sviluppo del comparto primario, il quale ancora oggi incontra notevoli difficoltà nel percorso di trasformazione verso imprese a gestione manageriale. Accanto ad aziende condotte razionalmente ve ne sono molte altre caratterizzate da scarsa dimensione, frammentazione del patrimonio fondiario, arretratezza tecnologica, scarsa capacità d'investimento ecc. (Piroddi, 2008).

La tendenza alla concentrazione degli allevamenti in un numero minore di aziende, ma di maggiori dimensioni, ha determinato la riduzione delle attività produttive in strutture più evolute e meglio rispondenti alle esigenze delle imprese di trasformazione in termini igienici e di qualità del latte (www.agrinnovazione.regione.sicilia.it).

I motivi della contrazione del numero di aziende, nel comparto caseario, sono da imputare all'incapacità, e spesso alla mancata volontà, di imporsi adeguatamente sul mercato o di investire

nell'ammodernamento tecnologico. Questi sono presupposti imprescindibili per la valorizzazione dei prodotti e la conseguente crescita dell'intero comparto (Piroddi, 2008).

L'attività di miglioramento genetico delle razze caprine è stata favorita dai Libri Genealogici attraverso la catalogazione dei soggetti in funzione dei requisiti genealogici, produttivi e morfologici. Le regole previste sono spesso inadeguate alle realtà di allevamento e tendono ad escludere un gran numero di aziende; ciò ha influito negativamente sulla dimensione delle popolazioni in selezione che, di fatto, rappresentano quote marginali (tra il 3 e il 10%) delle popolazioni commerciali (Garippa *et al.*, 2008).

Le produzioni lattiero-casearie caprine, in Sicilia, sono limitate anche dalla forte stagionalità in stretta dipendenza delle disponibilità foraggere al pascolo, alle quali viene, a loro volta, subordinata l'epoca in cui ricadono i parti.

Da sempre si è posta l'attenzione sui moderni sistemi di gestione delle greggi che prevedono l'adozione di accurati piani alimentari che tengano conto delle diverse fasi produttive dei capi (asciutta, gravidanza, lattazione e riproduzione), di adeguati piani sanitari di profilassi, dei risultati della selezione genetica, della sincronizzazione degli estri, della diagnosi precoce di gravidanza e di tutti gli interventi mirati al miglioramento della produttività delle greggi e nello stesso tempo al contenimento dei costi di produzione. Nonostante l'incremento dei costi dei fattori di produzione, i prezzi di vendita delle produzioni realizzate (latte, formaggi ecc..) sono sostanzialmente rimasti invariati. Ciò ha determinato un "impoverimento" degli imprenditori e un rallentamento nell'ammodernamento del comparto. Efficace risulterebbe il rinnovamento del capitale genetico animale indispensabile per l'incremento della produttività media per capo (Schilirò, 2006).

2.2. Tra mito e leggenda

Risulta difficile datare l'ingresso di questo piccolo ruminante fra gli animali domestici, perché bisognerebbe andare indietro nel tempo, quando ancora la scrittura non esisteva.

Dai graffiti e dai disegni rupestri è possibile constatare che 10-12 mila anni fa, prima di scegliere la strada dell'addomesticamento, gli uomini preistorici davano la caccia alle capre selvatiche per cibarsene.

Ma basta scorrere gli elenchi dei reperti trovati negli insediamenti neolitici del Medio Oriente per rendersi conto di un cambiamento radicale nel rapporto tra uomo e capra.

Da specie cacciata la capra diventa ben presto specie allevata, portata appresso dalle popolazioni nomadi nei loro continui spostamenti, capace di sopravvivere in condizioni dure anche per gli stessi esseri umani.

Molti studiosi ritengono che la capra sia stata, dopo il cane, la prima specie da “reddito” scelta dall’uomo. Sulla datazione di questa svolta epocale il parere non è unanime, ma è certa, nel corso dei secoli, l’acquisizione di molti popoli che il latte di questo piccolo animale avesse ottime proprietà.

È possibile affermare che le virtù della capra siano state conosciute ed apprezzate da Assiri, Babilonesi, Fenici ed Egizi. Lo testimoniano antichi reperti in cui questo piccolo ruminante è presente nelle decorazioni di vasi e tombe.

E non stupisce il fatto che le capre, dopo una tale celebrazione da parte delle popolazioni che gravitano attorno al bacino del Mediterraneo, siano entrate a far parte dell’Olimpo delle divinità greche.

Il mito di Amaltea è uno dei più suggestivi dell’antichità. La ninfa Amaltea ebbe addirittura un ruolo da protagonista nella vita di Zeus. Quando il futuro re degli dei era appena nato, e le cose per lui si stavano facendo difficili visto che il padre Crono lo avrebbe ucciso per timore di essere detronizzato, sua madre Rea ben presto lo nascose, affidandolo alla Madre Terra. Questa lo portò sull’isola di Creta, all’interno di una grotta, dove Zeus fu amorevolmente accudito da tre ninfe: Adrastea, sua sorella Io e la ninfa capra Amaltea, le cui mammelle fornirono il nutrimento principale a Giove.

E, come scrive Robert Graves nei suoi “Miti greci”, Zeus fu talmente grato alle tre ninfe per la loro bontà da immortalare tra le stelle, una volta diventato signore dell’Universo, l’immagine di Amaltea nelle sembianze della costellazione del Capricorno (Graves, 1955).

Ma c’è di più, perché anche la famosa cornucopia, il corno dell’abbondanza traboccante di cibo e bevande, altro non è che una delle corna di Amaltea, presa in prestito da Zeus e donata alle figlie di Melisseo, con la promessa che avrebbe soddisfatto ogni loro desiderio.

Infine occorre ricordare come, durante la sua vita tumultuosa, Zeus avrà occasione di ricorrere alla pelle di Amaltea, miracolosa egida che protesse il suo scudo durante uno dei più insidiosi scontri, quello contro i Titani. Un onore che non toccò né ovini né bovini, ma che fu appannaggio esclusivo di una razza caprina dalle corna lunghissime e attorcigliate. Proprio come quelle di una razza della Magna Grecia: la Girgentana. Teoria supportata da un appassionante

libro scritto da Angela Mazziotta e Giuseppe Gennaro, dedicato proprio a questa capra siciliana, esempio vivente del mito di Amaltea (Mazziotta e Gennaro, 2002).

Uscendo dal mito ed entrando nel mondo classico ci si accorge di quanta letteratura riguardi la capra, e quindi di quanta attenzione per la capra abbiano avuto gli antichi. Tra tutti emerge la figura di uno dei massimi esperti di “cose agricole” della latinità, Lucio Giunio Moderato Columella, agronomo *ante litteram* e appassionato studioso della natura. Spagnolo di nascita, fu contemporaneo di Seneca (4-65 d.C.) ed ebbe certamente modo di viaggiare in diversi paesi del bacino del Mediterraneo, perfezionando forse le sue conoscenze agro-zootecniche in questo modo. L’opera per la quale è celebre è un corposo trattato intitolato “l’arte dell’agricoltura”: assimilabile ad un vero e proprio manuale dell’agronomo. Nel libro settimo, del medesimo trattato, Columella affronta le questioni inerenti il “bestiame minuto”, asini, suini, cani, pecore e ovviamente le capre, specie che conosce per esperienza diretta e della quale parla in un modo che risulta ancora attuale, nonostante siano passati quasi duemila anni. *Un animale che preferisce agli erbai la macchia e i rovi, in grado di essere allevato anche in montagna e in luoghi silvestri, incurante com’è delle spine. Fra gli arbusti ama particolarmente il corbezzolo, l’alaterno, il citiso selvatico, nonché i giovani fusticelli di elce o di quercia* (De Luca, 2007).

2.2.1. La razza Girgentana

Le notizie più remote della capra Girgentana risalgono al VII secolo a.C. nella civiltà Greca, per mezzo della quale, si presume, sia arrivata in Sicilia. Secondo alcune ricerche, deriva da una specie selvatica dalle grandi corna spiralate che vive nel Kashmir, indicata come Capra Falconeri. Nell’antichità, la capra occupava un posto di grande rilievo, considerata sacra e simbolo di abbondanza e prolificità (AA.VV.).

E’ una delle otto razze caprine italiane ufficialmente riconosciute, apprezzata per le sue caratteristiche morfologiche e produttive anche all’estero ma, in quest’ultimo caso, più nei parchi zoologici che nelle attività zootecniche. La Girgentana è una capra di taglia medio-piccola, fine e leggera, presenta orecchie medio piccole con portamento eretto, occhi vivaci ed espressivi. Il profilo fronto-nasale è di tipo camuso, la barba è presente sia nei maschi che nelle femmine. Nella zona frontale, prevalentemente nei maschi si nota un ciuffo di folte peli spesso arruffati. Le corna, presenti in entrambi i sessi e molto sviluppate nei maschi, costituiscono un peculiare carattere distintivo: si presentano elegantemente attorcigliate a spirale, erette e turrette, quasi verticali, mai eccessivamente divergenti e pressoché unite alla base. Il mantello è bianco, con

pelo ruvido medio tendente al lungo; la testa è spesso caratterizzata da una numerosa picchiettatura. La stessa colorazione è presente anche sulle orecchie e spesso sul garrese. L'apparato mammario è molto ampio, con mammella ben attaccata (Marletta e Bordonaro, 2011).

Fino agli anni '70 l'allevamento della capra Girgentana ha rappresentato in Sicilia l'unico esempio di allevamento caprino specializzato. Mentre le capre venivano allevate, in ragione del 10% circa della consistenza, in greggi con ovini per la produzione di formaggi e ricotta, la Girgentana veniva allevata in greggi solo caprini in allevamenti piccoli e medi, allo stato semi-stabulato, per la produzione di latte alimentare. Il sistema di allevamento tradizionale prevedeva il ricovero in caprili ricavati da locali adatti, attigui all'abitazione dell'allevatore, all'interno dei centri urbani o in aree immediatamente limitrofe. La vendita del latte, prevalentemente destinata al consumo diretto, avveniva mungendo le capre porta a porta. Successivamente, l'introduzione di nuove norme in materia di sanità hanno determinato una progressiva e costante contrazione numerica della capra Girgentana (AA.VV.) da imputare principalmente alla necessità di trasformazione imposta al tradizionale sistema di allevamento (stabulazione delle capre dentro i centri abitati) e di commercializzazione del latte. A seguito di questo declino, la capra Girgentana è stata considerata tra le razze in pericolo d'estinzione (Marletta e Bordonaro, 2011). Il Libro Genealogico, attivato nel 1973, è stato dismesso nel 2009 a causa della limitata consistenza numerica della razza. Nello stesso anno è stato istituito il Registro Anagrafico. Attualmente è allevata sul territorio siciliano, principalmente in provincia di Agrigento e con presenze sparse in provincia di Palermo e Catania, e la sua consistenza è di circa 900 capi (Asso.Na.Pa., 2010).

2.2.2. Salvaguardia e valorizzazione

Negli ultimi decenni, la Comunità Europea ha riconosciuto nella razza Girgentana un importante valore economico, sociale e culturale tale da proporre un primo screening conoscitivo sull'attuale consistenza numerica, sia per rilevare il livello di inbreeding che per evidenziare le caratteristiche produttive e qualitative del latte, al fine di promuovere adeguate azioni di salvaguardia e valorizzazione. Dagli ultimi studi di tipo molecolare, è stata evidenziata l'originalità genetica di questa razza, che costituisce sempre un cluster ben distinto dalle altre razze e popolazioni (Sardina *et al.*, 2006).

Questa tendenza a formare gruppi omogenei e distinti è stata condizionata dall'elevato grado di consanguineità legata alla ridotta consistenza della razza. A conferma di ciò, alcune indagini condotte con diversi marcatori, nelle regioni codificanti di alcuni geni delle proteine del latte, hanno evidenziato peculiari assetti per la razza Girgentana (Gigli *et al.*, 2008; Marletta *et al.*, 2005; Pappalardo *et al.*, 2001; Sardina *et al.*, 2009).

Per la consistenza estremamente ridotta, il progetto di recupero proposto dall'A.I.A.P.CA.GI (Associazione Italiana Allevatori e Produttori della Capra Girgentana) prevede, accogliendo le disposizioni europee, l'aumento del numero di capi, fino al limite che garantisca un adeguato contenimento del tasso di consanguineità.

L'Assessorato Regionale delle Risorse Agricole e Alimentari, in collaborazione con Slow Food e l'Associazione Regionale Allevatori Sicilia, ritengono che la capra Girgentana possa contribuire notevolmente ad uno sviluppo sostenibile dell'agroecosistema in cui essa si è evoluta. Le iniziative messe in atto da questi Enti mirano al contenimento di possibili danni dovuti alla deriva genetica e al rilancio della razza attraverso la caratterizzazione e la valorizzazione del latte e dei formaggi mono-razza (Marletta e Bordonaro, 2011).

3. Qualità e polimorfismo caseinico del latte di capra

3.1. Il latte

Il latte è il liquido secreto dalla ghiandola mammaria delle femmine in lattazione ed occupa un posto di rilievo nell'alimentazione umana sia tal quale che in seguito alla sua trasformazione in formaggio ed in altri prodotti lattiero caseari (Ramunno *et al.*, 2006).

Nel corso della lattazione avvengono dei cambiamenti nella composizione chimica del latte, i quali dipendono sia da fattori intrinseci, come la specie, la razza, il genotipo, ecc., che da fattori estrinseci quali l'alimentazione ed i fattori ambientali.

Le cellule dell'epitelio mammario, durante la sintesi del latte, prelevano i nutrienti direttamente dal flusso ematico e li rielabora per la sintesi dei vari componenti (lattosio, lipidi e proteine), ai quali aggiunge, assumendoli sempre dal circolo sanguigno, sali minerali e componenti minori (azoto non proteico e vitamine) (Bauman *et al.*, 2006a).

La secrezione di latte da parte della ghiandola mammaria è soggetta ad una serie di controlli di tipo neuroendocrino, che stimolano il metabolismo mammario ai quali si accompagna una crescente richiesta di nutrienti. Durante questa fase si assiste ad una migliore efficienza digestiva e metabolica dell'animale. In particolare, all'inizio della lattazione, l'animale è soggetto ad una serie di cambiamenti del metabolismo dei diversi organi e tessuti, che assicura un adeguato rifornimento di nutrienti alla ghiandola mammaria. Tali adattamenti metabolici riguardano: il tessuto adiposo, che, tramite la mobilitazione degli acidi grassi contenuti nei trigliceridi degli adipociti, consente di compensare il momentaneo deficit energetico che si realizza negli animali durante la prima fase della lattazione; il tessuto muscolare, che, sempre nella fase iniziale della lattazione, mobilita proteine di riserva per sopperire agli aumentati fabbisogni della ghiandola mammaria; il fegato, la cui attività di gluconeogenesi, di turnover del glucosio e di ossidazione degli acidi grassi, incrementa notevolmente con l'inizio della lattazione, per compensare gli accresciuti fabbisogni energetici che questo stadio fisiologico necessita; le ossa, che forniscono parte dei minerali, soprattutto calcio, secreti con il latte. Infine, un ruolo determinante nella regolazione del metabolismo dell'animale in lattazione è svolto dagli ormoni circolanti. Alla funzionalità della mammella concorrono, infatti, molti ormoni; fra questi, per la mammogenesi sono importanti gli estrogeni, che agiscono sullo sviluppo dei dotti, e il progesterone, che influenza il trofismo delle cellule alveolari; vi è poi l'effetto di altri ormoni, quali la prolattina, il cortisolo, l'insulina, gli ormoni tiroidei (T3: Triiodotironina e T4: Tiroxina), l'IGF1 e l'ormone

placentare prolattina-simile (OLP, Ormone Lattogeno Placentare). La lattogenesi e la galattopoiesi sono sostenute dalla prolattina, secreta dalle cellule lattotrofe dell'adenoipofisi, che avvia i processi di biosintesi e di secrezione del latte. Gli estrogeni svolgerebbero un ruolo indiretto nel favorire la lattogenesi, in quanto l'aumento della loro concentrazione ematica dopo il parto stimolerebbe la secrezione di prolattina da parte dell'adenoipofisi (Kann e Houdebine, 1978), così come la diminuzione della concentrazione di progesterone durante la fase finale della gravidanza è il segnale più efficace nell'indurre la secrezione di prolattina e, pertanto, avviare il processo di secrezione del latte (Secchiari *et al.*, 2009).

L'arrivo di tale liquido nella mammella è regolato dall'ossitocina, ormone ipofisario che, a seguito di uno stimolo favorevole della mammella, viene immesso nel circolo sanguigno determinando la contrazione delle cellule mioepiteliali che lo avviano attraverso i grandi condotti della cisterna (Alais, 2000).

Nel corso della lattazione si verificano dei cambiamenti nella composizione chimica del latte. Questi dipendono sia da fattori legati alla razza ma anche da fattori ambientali quali il clima, il sistema di allevamento e l'alimentazione.

Quest'ultima è il fattore che maggiormente condiziona la quantità e la qualità del latte prodotto. L'effetto della dieta è legato anche alla sintesi di alcuni acidi grassi a corta catena, e quindi alla componente grassa del latte. Infatti, la prevalenza nella dieta di foraggi ricchi in fibra, favorendo la sintesi di acidi grassi, consente la produzione di un latte ad alto contenuto lipidico, mentre razioni ricche in carboidrati facilmente fermentescibili determinano la formazione di un latte più magro.

L'utilizzazione esclusiva dell'erba dei pascoli non sempre permette alle capre di esprimere adeguati livelli produttivi, a causa della forte variabilità stagionale nella disponibilità e qualità dell'erba e delle condizioni climatiche non sempre favorevoli al pascolamento. In questi casi diventa necessario ricorrere all'integrazione con concentrato, il quale consente un miglioramento produttivo in termini di quantità e composizione del latte (Morand-Fehr *et al.*, 2007).

La produzione quanti-qualitativa di latte è inoltre influenzata dalla prolificità degli animali, risultando maggiore in quelli con parto gemellare rispetto a quelli con parto singolo (Macciotta *et al.*, 2005). Questa superiorità produttiva viene generalmente attribuita all'influenza diretta della placenta sullo sviluppo della mammella modulata dall'ormone lattogeno placentare (OLP). Infatti, gestazioni plurime, ma anche feti di maggiore peso, sono associati ad una maggiore massa placentare con una superiore produzione di OLP il quale, con azione anabolizzante,

determina un incremento dei lobuli-alveolari della ghiandola mammaria e quindi una superiore produzione di latte. La produzione del latte è condizionata dal numero di alveoli attivi nella mammella e dall'efficienza di sintesi di ciascuno di essi. La quantità di alveoli attivi nel corso della lattazione è influenzata dalla percentuale degli stessi attivi nel corso della precedente lattazione che non sono involuti e dal numero di alveoli sviluppati nel corso della stessa lattazione. Con il progredire della carriera produttiva degli animali la percentuale degli alveoli che va incontro ad involuzione aumenta, determinando la progressiva contrazione del potenziale produttivo della ghiandola mammaria. Inoltre, l'entità degli alveoli capaci di differenziarsi nel corso della lattazione prima aumenta fino al terzo parto per poi ridursi gradualmente (Pulina *et al.*, 2005).

3.2. La frazione proteica del latte caprino

Tra le diverse frazioni costituenti il latte quella più complessa è rappresentata dalle sostanze azotate. Queste, sono presenti nel latte caprino prevalentemente sotto forma di proteine (95-96%) ed in minima parte come sostanze non proteiche (ammoniaca, urea ecc.) (4-5%) (Pulina *et al.*, 2005).

Le proteine (dal greco “*protos*” che vuol dire “primo”) sono costituite da singoli amminoacidi legati tra loro da un legame covalente, detto legame peptidico. La sequenza, ovvero l'ordine in cui sono legati i singoli amminoacidi determina la struttura primaria della proteina e, di conseguenza le sue proprietà funzionali (Brunelli, 2008).

All'interno delle cellule epiteliali della mammella, che costituiscono l'alveolo (o acino), il pool amminoacidico viene assemblato in proteine secondo precise informazioni genetiche fornite dal nucleo delle cellule. Appena sintetizzate sui ribosomi, queste, penetrano nel reticolo endoplasmatico e migrano verso l'apparato del Golgi, dove avvengono le modificazioni molecolari che portano all'addizione di gruppi fosforici e glicosidici alle caseine. Infine da questa struttura cellulare si staccano vacuoli contenenti le proteine neosintetizzate, che migrano verso il polo apicale della cellula epiteliale e riversano il loro contenuto proteico nel lume dell'acino (Qi, 2007).

Nel latte dei ruminanti sono presenti sei principali frazioni proteiche ed in particolare quattro caseine (α_{S1} -caseina, α_{S2} -caseina, β -caseina e κ -caseina) codificate da 4 geni autosomici (rispettivamente CSN1S1, CSN2, CSN1S2 e CSN3) strettamente associati in un tratto di DNA di circa 250 kb del cromosoma 6 (Rijnkles, 2002), e le siero proteine, la β -lattoglobulina

(cromosoma 11; Popescu *et al.*, 1996) e l' α -lattoalbumina (cromosoma 5; Hayes *et al.*, 1993) (Ramunno *et al.*, 2006).

La caseina (dal latino "caseus" ovvero formaggio), rappresenta circa l'80% delle proteine del latte; esse sono alla base del processo di coagulazione presamica del latte, rappresentando il vero e proprio fulcro del processo di caseificazione influenzandone sia la resa che la qualità del coagulo (Mariani *et al.*, 1991).

Dal punto di vista nutrizionale, le caseine, sono proteine ad elevato valore biologico in quanto contengono tutti gli amminoacidi essenziali che, non essendo sintetizzabili dal nostro organismo, devono essere assunti con la dieta. Inoltre, rappresentano per il lattante, la principale fonte di amminoacidi e svolgono un ruolo determinante nel trasporto del fosforo e del calcio in quantità sufficienti per le esigenze di sviluppo del tessuto osseo. In particolare le caseine del gruppo α_s (α_{s1} e α_{s2}) determinerebbero la capacità delle micelle di trasportare il calcio e il fosforo colloidale (Ramunno *et al.*, 2006).

La biosintesi delle caseine viene indotta e stimolata dalla prolattina che si fissa su un recettore della membrana della cellula secretrice. Il progesterone sembra essere l'antagonista della prolattina, limitando fortemente questa induzione, mentre i glucocorticoidi, che da soli sono inattivi, amplificano gli effetti della prolattina (Alais, 2000).

La concentrazione di siero proteine, proteine globulari non fosforilate ed insensibili al calcio, è simile a quella del latte di vacca, ma ripartita diversamente: il latte di capra presenta meno lattoalbumina (17%) e sieroalbumina (3%), ma più lattoglobulina (77%) (Pulina *et al.*, 2005).

Le caseine hanno un aspetto spugnoso e poroso, sono organizzate sottoforma di sub-unità denominate sub-micelle (α_{s1} , α_{s2} , β e κ -CN) le quali, in presenza di fosfato di calcio, si aggregano in unità più complesse di varia dimensione denominate micelle. La caseina del latte caprino presenta delle peculiarità a livello strutturale per cui differisce da quella del latte vaccino: le micelle, infatti, hanno dimensioni minori (40-160 nm), un contenuto inferiore di α_{s1} -CN e maggiore di κ -CN e α_{s2} -CN e β -CN, (Tabella). Le caseine, come si evince nel seguente prospetto, vengono generalmente suddivise in due gruppi: calcio sensibili (α_{s1} , α_{s2} e β) e calcio insensibili (κ) (Qi, 2007).

Distribuzione caseinica (%) nel latte proveniente da specie diverse

	α_{S1} -CN	α_{S2} -CN	β -CN	k-CN
Caprino	da 5 a 17	6-20	50	15
Bovino	38	10	40	12
Uomo	tracce	tracce	70	27

Da: Qi P., 2007.

All'interno della specie caprina le singole razze mostrano differenze nel contenuto caseinico. La forte variabilità individuale riscontrata per questo componente è in larga misura da attribuirsi alla differente concentrazione di α_{S1} -caseina (Pulina *et al.*, 2005). L'elevato polimorfismo dell' α_{S1} -caseina trovato in questa specie è fortemente correlato con la concentrazione della stessa caseina nel latte (Ramunno *et al.*, 2008).

3.2.1. Polimorfismo genetico delle caseine

L'eterogeneità delle frazioni azotate dipende dal cosiddetto "polimorfismo genetico" (dal greco, "l'aver molte forme"). La base molecolare dei polimorfismi presenti nelle proteine del latte è dovuta, comunemente, alla sostituzione o all'eliminazione di amminoacidi nella catena proteica che possono modificare profondamente le caratteristiche della struttura primaria delle proteine (Greppi e Roncada, 2005).

Con il termine polimorfismo si indica l'esistenza, nell'ambito di una popolazione, di diverse forme alleliche con frequenza superiore all'1% per un dato locus, ovvero la presenza di molte forme genetiche di una stessa proteina, che si distinguono tra loro per la sostituzione o la delezione di alcuni amminoacidi all'interno della catena polipeptidica (Martin *et al.*, 1999).

In genetica, per allele si intende ogni forma vitale di DNA codificante per lo stesso gene; in altre parole, l'allele è responsabile della particolare modalità con cui si manifesta il carattere ereditario controllato da quel gene specifico.

Il polimorfismo è riconducibile a due ordini di fattori: le variazioni geniche e le modificazioni post-traslazionali. Quest'ultime sono dovute ad una diversa localizzazione nella sequenza amminoacidica della struttura primaria dei siti di fosforilazione e glicosilazione (Ramunno *et al.*, 1994; Klose, 1999). Tali modificazioni sono state messe in evidenza, nel recente passato, attraverso tecniche di tipo elettroforetiche e cromatografiche (Addeo *et al.*, 1988; Greppi e Roncada, 2005).

Per la specie caprina, la pressante richiesta di salvaguardare la biodiversità e la tipicità di prodotti lattiero - caseari, affiancata al valore aggiunto derivante dalle proprietà ipoallergeniche e

nutrizionali del latte, ha promosso numerosi studi sulle caratteristiche di questi geni (Cosenza *et al.*, 2003; Ramunno *et al.*, 2008).

La ricerca ha messo in evidenza uno spiccato polimorfismo nei geni che codificano per l' α_{S1} -CN (CSN1S1), l' α_{S2} -CN (CSN1S2), la β -CN (CSN2) e la k-CN (CSN3), con conseguenze dirette sulla qualità del latte (Ramunno *et al.*, 2008).

La frequenza delle varianti genetiche di ogni proteina del latte considerata varia con la specie e con la razza. È importante sottolineare, che i geni responsabili per la sintesi delle caseine sono organizzati in cluster. Ciò comporta una stretta interazione tra le frazioni caseiniche e il meccanismo che regola la loro espressione (Martin *et al.*, 2002).

Le analisi più approfondite sul polimorfismo delle caseine di capre hanno interessato l' α_{S1} -CN. Il gene che codifica per questa frazione è caratterizzato da alleli che determinano notevoli differenze quantitative nel contenuto di tale proteina nel latte (Pagano *et al.*, 2010a; Todaro *et al.*, 2010; Valenti *et al.*, 2011).

Infatti, i numerosi studi sui polimorfismi lattoproteici che caratterizzano questo piccolo ruminante hanno evidenziato per il gene che codifica per l' α_{S1} -CN 17 alleli, definiti come alleli codominanti: A, B1, B2, B3, B4, C, D, E, F, G, 01, 02, H, I, L, M, N. Questi, risultando associati a differenti tassi di sintesi caseinica, sono stati classificati in quattro gruppi: alleli forti (A, B1, B2, B3, B4, C, H, L, M), intermedi (E ed I) e deboli (D, F e G), in grado di sintetizzare rispettivamente un alto (circa 3,5 g/l), medio (1,1 g/l) e basso (0,45 g/l) quantitativo di l' α_{S1} -CN, più alleli nulli (01, 02 e N) che in forma omozigote non sintetizzano alcun tipo di caseina (Sacchi *et al.*, 2005; Ramunno *et al.*, 2008; Todaro *et al.*, 2010).

La maggior parte degli eventi mutazionali che determinano la formazione di questi alleli sono stati identificati. Le forme alleliche associate ad un normale contenuto proteico si originano da singole sostituzioni nucleotidiche che determinano la sostituzione di un singolo amminoacido (Ramunno *et al.*, 2005; Ramunno *et al.*, 2008).

Per gli alleli associati ad una sintesi intermedia di caseina si è visto che l'allele E trae origine in seguito ad una inserzione di un frammento di DNA di 457 bs tra i nucleotidi 124 e 125 del 19° esone. Questa inserzione ostacolerebbe il trasferimento del messaggio genetico in quanto determina la degradazione del messaggero. Mentre per gli alleli D e G, sono stati osservati mRNA che mancano rispettivamente del 9° e del 4° esone; il fenomeno coinvolto in questa alterazione consiste in un'alterazione nel processo di trascrizione genetica che prende il nome di splicing (processo durante il quale vengono rimosse le sequenze codificanti, introni). L'origine

dell'allele F (debole) è stata, invece, attribuita alla delezione di una citosina al 23° nucleotide del 9° esone e dall'inserzione di 11 bp e 3 bp nell'introne successivo. Da queste mutazioni dipenderebbe il ridotto contenuto in α_{S1} -CN riscontrato nel latte di capra (Ramunno *et al.*, 2005). La variante α_{S1} -CN 01, che sembra essere il vero "allele nullo", si caratterizza per la delezione di un tratto di DNA di circa 8,5 kb (Cosenza *et al.*, 2003), mentre un'ampia inserzione è l'evento molecolare che genera l'allele α_{S1} -CN 02 (Ramunno *et al.*, 2008).

L'ultimo allele ad essere stato identificato, a questo locus, è stato l'allele nullo α_{S1} -CN N (Ramunno *et al.*, 2005). Come emerge dalla catena di tipizzazione questo allele, similmente all'allele F (debole), anch'esso si caratterizza per una delezione della citosina al 23° nucleotide del 9° esone, ma non presenta nessuna inserzione a livello dell'introne successivo. La delezione al 9° esone genera uno stop codon prematuro al 12° esone, ritenuto responsabile dell'apparente assenza di sintesi proteica (Ramunno *et al.*, 2008).

Infatti, ormai da diversi anni, è noto il legame esistente tra la terminazione prematura della traduzione e la mancata sintesi proteica (Daar e Maquat, 1988; Valentine, 1998).

Da questa regola generale differisce, per motivi non ancora del tutto chiariti, l'allele F il quale è associato ad una se pur minima sintesi di α_{S1} -CN (Ramunno *et al.*, 2005).

Meno polimorfo, ma di indubbio interesse, risulta il locus CSN2 di capra che codifica per la β -CN; questa fosfoproteina, formata da 207 residui amminoacidici, rappresenta la componente proteica più abbondante nel latte dei mammiferi. Per la capra, l'organizzazione del gene che codifica per la β -CN, avente una lunghezza di 9 kb, non si differenzia molto da quella osservata nelle altre specie. Negli anni sono state evidenziate 8 forme alleliche codificanti per la β -CN: A (Roberts *et al.*, 1992), A1 (Cosenza *et al.*, 2005), B (Mahè e Grosclaude, 1993), C (Neveu *et al.*, 2002), D (Galliano *et al.*, 2004), E (Chessa *et al.*, 2008), associati ad un normale contenuto di β -CN (circa 5 g/l) e, 0 e 01 associati ad una apparente assenza di tale frazione proteica nel latte. Le mutazioni che caratterizzano i due alleli nulli originate da una singola sostituzione nucleotidica (β -CN 0) e da una singola delezione (β -CN 01), entrambe a livello del settimo esone, generano la formazione di codoni terminali prematuri, rispettivamente in posizione 58 (Persuy *et al.*, 1999) e 182 (Rando *et al.*, 1996). Tali mutazioni, come evidenziato per il gene CSN2 di capra, riducono la sintesi degli mRNA di 10 e 100 volte, rispettivamente per l'allele 0 e 01, se confrontata agli alleli "normali" (Ramunno *et al.*, 2008).

Recentemente, inoltre, è stata individuata a livello proteico un'altra variante, sebbene non ancora caratterizzata (Cosenza *et al.*, 2007).

La presenza degli alleli nulli per la β -CN, che deprimono l'espressione di tale carattere, sembra essere associata sia all'aumento dell' α_{S1} -CN che al contenuto di caseina totale nel latte. In aggiunta, da analisi condotte sulle proprietà reologiche, il latte prodotto da individui omozigoti per gli alleli nulli presentava tempi di coagulazione tre volte superiori al valore normale, una ridotta consistenza del coagulo ed una minore resa in formaggio (Persuy *et al.*, 1999).

L'ultimo tra i geni codificanti per le caseine calcio sensibili ad essere stato eletto "Gene Maggiore" è quello codificante per α_{S2} -CN (*CSNIS2*). L' α_{S2} -CN, fosfoproteina costituita da 208 amminoacidi, tra le caseine calcio sensibili è quella maggiormente fosforilata. In questi anni sono stati individuati e caratterizzati 7 alleli associati ad almeno 3 diversi livelli di sintesi di α_{S2} -CN: normale (A, B, C, E ed F) (Lagonigro *et al.*, 2001), intermedio (D) e nullo (0) (Ramunno *et al.*, 2008).

Dall'analisi molecolare relativa alle differenze tra i singoli alleli normali per l' α_{S2} -CN sono state evidenziate delle differenze legate a singole sostituzioni nucleotidiche a loro volta responsabili di singole sostituzioni amminoacidiche (Lagonigro *et al.*, 2001; Ramunno *et al.*, 2001a).

Per l'allele D, che si differenzia per una delezione di 106 nucleotidi, in seguito ad analisi di tipo elettroforetiche (SDS PAGE, Sodium Dodecyl Sulphate - PolyAcrylamide Gel Electrophoresis, ossia elettroforesi su gel di poliacrilammide in presenza di sodio dodecil solfato) è stata evidenziata una riduzione dell'intensità della banda rispetto a quella di altre varianti per tale *locus*. Questo risultato conferma quanto detto prima, ovvero, che l'allele D per α_{S2} -CN risulta associato ad un più basso (intermedio) livello di sintesi rispetto al normale (Ramunno *et al.*, 2001a).

Infine, la mutazione responsabile dell'allele nullo è stata individuata nella formazione di uno stop codon prematuro in posizione 110 (Ramunno *et al.*, 2001b), ed è proprio questa interruzione prematura della traduzione, ovvero del messaggio genetico, che compromette la sintesi proteica, così come avviene per gli alleli N, 0 e 01 dell' α_{S1} -CN, (Ramunno *et al.*, 2005).

Sempre nella specie caprina, analogamente alle caseine calcio-sensibili, anche la k-CN si presenta particolarmente polimorfa. Questa proteina, di natura anfotera, svolge un ruolo determinante nella formazione, stabilizzazione ed aggregazione delle micelle caseiniche, influenzando così gli aspetti tecnologici e le proprietà nutrizionali del latte. Dal confronto interspecifico è emerso una maggiore stabilità per il gene *CSN3*, che codifica per la k-CN, rispetto agli altri, probabilmente da attribuire al peculiare ruolo svolto da questa frazione caseinica nella stabilizzazione delle micelle (Prinzenberg *et al.*, 2005).

Ad oggi per tale *locus CSN3*, nella specie caprina, sono stati identificati 15 siti polimorfici, presenti soprattutto a livello del 4° esone, dai quali prendono origine 16 alleli, dei quali 13 sono delle varianti proteiche e 3 alleli silenti: A, B, B', B'', C, C', D, E, F, G, H, I, J, K, L, M (Caroli *et al.*, 2006; Chiatti *et al.*, 2005).

Così come proposto da Prinzenberg *et al.* (2005) attualmente, sulla base del loro punto isoelettrico, le diverse varianti alleliche sono state suddivise in due gruppi: A^{IEF} (IP “punto isoelettrico” = 5,26) e B^{IEF} (IP = 5,29).

Le varianti del gruppo B^{IEF} per la k-CN risultano associate a livelli maggiori di proteina e caseina rispetto alle varianti del gruppo A^{IEF} (Chiatti *et al.*, 2005).

3.2.2. Influenza del polimorfismo per l' α_{S1} -CN sulle caratteristiche del latte caprino

Gli effetti del polimorfismo dell' α_{S1} -CN su produzione, composizione, struttura micellare, caseificazione e resa casearia del latte di capra sono stati oggetto di una intensa attività di ricerca da parte della comunità scientifica internazionale (Bonanno *et al.*, 2009; Chilliard *et al.*, 2006; De la Torre Adarde *et al.*, 2009; Pagano *et al.*, 2010a; Ramunno *et al.*, 2008; Schmidely *et al.*, 2002; Valenti *et al.*, 2011).

Le differenze quantitative tra le varianti genetiche delle singole proteine, pur essendo quasi sempre molto piccole, possono condizionare, sia direttamente che indirettamente, le proprietà casearie e nutritive del latte (Clark e Sherbon, 2000).

Il genotipo forte per l' α_{S1} -CN risulta associato ad un latte che presenta una migliore composizione in termini di sostanza secca, proteina, fosforo ed un pH più basso rispetto al latte con minor contenuto di α_{S1} -CN (Ramunno *et al.*, 2008).

L' α_{S1} -CN, essendo un componente strutturale della micella caseinica, gioca un ruolo importante nella formazione della cagliata; infatti, un latte che presenta un'elevata quantità di α_{S1} -CN, e quindi una maggiore presenza di proteina totale, solidi totali e di caseina, mostra tempi di coagulazione più lunghi e la formazione di coaguli più compatti, evidenziando nel complesso una migliore attitudine alla caseificazione (Clark e Sherbon, 2000; Moioli *et al.*, 1997; Remeuf, 1993; Valenti *et al.*, 2011).

È stato altresì riscontrato che le differenti varianti alleliche per l' α_{S1} -CN possono influenzare altri parametri del latte quali la produzione totale, (Pagano *et al.*, 2010a; Valenti *et al.*, 2011), il contenuto in urea (Avondo *et al.*, 2009a; Bonanno *et al.*, 2007c; Schmidely *et al.*, 2002), grasso

(Chilliard *et al.*, 2006; Grosclaude *et al.*, 1994) e profilo acidico (acidi grassi di nuova sintesi) (Chilliard *et al.*, 2006; Valenti *et al.*, 2010).

In particolare, il notevole polimorfismo al locus per l' α_{S1} -CN sembra condizionare gli acidi grassi a media catena e quelli derivanti dall'attività enzimatica della delta-9 desaturasi. Differenze significative sono state riportate a carico degli acidi grassi saturi da C8 a C12 e per gli acidi palmitico, stearico, linoleico, oleico e rumenico (CLA); inoltre alcuni rapporti tra gli acidi grassi indicatori dell'attività della delta-9 desaturasi risultano influenzati dall' α_{S1} -CN (Chilliard *et al.*, 2006; Valenti *et al.*, 2010). Infatti, gli acidi grassi del latte desaturati nella mammella per opera della delta-9 desaturasi (*cis*-9 C14:1, *cis*-9 C16:1, *cis*-9 C17:1 e *cis*-9 C18:1) risultano maggiori nel latte prodotto da capre dotate di genotipo debole (α_{S1} -CN FF); questi acidi grassi provengono in parte dalla dieta ed in parte sono sintetizzati nella ghiandola mammaria per mezzo dell'enzima delta-9 desaturasi. Il rapporto tra questi acidi grassi saturi a media catena ed i corrispettivi *cis* 9 insaturi possono rappresentare un buon indicatore dell'attività dell'enzima delta-9 desaturasi. Chilliard *et al.*, (2006) suggeriscono che l'attività desaturasica è maggiore negli animali con genotipo debole (α_{S1} -CN FF), malgrado Ollier *et al.*, (2008), abbiano osservato che l'espressione del gene codificante per la stearyl-CoA desaturasi sia più bassa per il genotipo debole.

La composizione acidica del grasso del latte di capra rappresenta una delle componenti che maggiormente lo caratterizzano, influenzandone sia le caratteristiche tecnologiche che nutrizionali. I lipidi, infatti, sono direttamente coinvolti nella definizione della resa casearia del latte e della consistenza, del colore e del gusto dei prodotti caseari caprini (Delacroix-Buchet e Lambert, 2000).

Ormai nota da alcuni anni risulta l'influenza sulle proprietà organolettiche: infatti sia il latte che il formaggio ottenuto da soggetti portatori del genotipo forte per l' α_{S1} -CN si caratterizza per un odore e un sapore meno intenso rispetto a quello derivante da capre omozigoti per alleli "difettivi" (Ramunno *et al.*, 2008). La mitigazione del caratteristico sapore ircino, per i formaggi prodotti da latte caratterizzati da un alto o intermedio contenuto in α_{S1} -CN, dipende dal differente profilo in acidi grassi (Delacroix-Buchet *et al.*, 1996; Delacroix, 1998). In realtà, altre ipotesi attribuiscono l'affievolimento del caratteristico sapore nel formaggio caprino, non tanto al gene per l' α_{S1} -CN, ma al processo di maturazione del formaggio, ovvero al processo lipolitico cui sono soggetti gli acidi grassi (Serradilla, 2003).

Contrariamente a quanto riportato in letteratura sull'influenza del genotipo sulla percentuale di lattosio nel latte, Todaro *et al.*, (2010) riportano differenze significative tra i gruppi di capre confrontate, rispettivamente con genotipo forte, intermedio e debole per l' α_{S1} -CN. La maggiore presenza, in termini percentuali, di lattosio, nel latte prodotto da capre con genotipo intermedio, è stata attribuita al diverso livello produttivo mostrato dai tre genotipi, progressivamente decrescente passando dal genotipo forte al debole, per la nota correlazione positiva con la produzione giornaliera di latte.

In prove volte a valutare l'utilizzazione nutrizionale degli alimenti in capre a differente genotipo lattoproteico, rispettivamente con genotipo forte, associato ad un'elevata capacità di sintesi per l' α_{S1} -CN, e debole, è stata riportata per le prime una maggiore ingestione alimentare (De la Torre, 2006; Schmidely *et al.*, 2002). Aumentando il livello energetico della dieta, a seconda del diverso "valore genetico" dell'animale, diverse sono state le risposte; quelli con genotipo forte per l' α_{S1} -CN presentavano o una maggiore produzione di latte o una maggiore concentrazione di proteine e grasso nello stesso (Boza, 2005; Morand-Fehr *et al.*, 2000). Occorre mettere in evidenza come le sole differenze riscontrate nell'ingestione volontaria di alimento non giustificano le differenze riscontrate per la quantità di proteina, caseina e grasso nel latte. Queste divergenze lasciano ipotizzare una diversa utilizzazione nutrizionale degli alimenti, probabilmente dovuta al differente fabbisogno di proteine, rispettivamente maggiore o minore, per le capre con genotipo forte o debole per l' α_{S1} -CN.

In merito al comportamento alimentare di animali a diversa attitudine genetica a produrre caseina, Avondo *et al.* (2007) hanno valutato l'attività selettiva di capre portatrici di varianti forti (AA) e deboli (FF) per l' α_{S1} -CN in una prova di alimentazione free-choice. Pur riscontrando tra i gruppi ingestioni uguali e ben superiori alle loro esigenze, si è tuttavia evidenziato, nei soggetti con varianti forti, la tendenza a selezionare proteina meno degradabile; quest'ultima potrebbe aver contribuito al miglioramento dell'efficienza di utilizzazione proteica nel rumine, come dimostrano i minori livelli di urea rilevati nel latte dei soggetti con alleli forti.

Altri autori hanno confermato come le capre con genotipo forte (AA) mostrino una maggiore efficienza di utilizzazione dell'azoto, circostanza che, riducendo l'escrezione azotata, minimizza il rilascio di azoto nell'ambiente (Avondo *et al.*, 2009a; Bonanno *et al.*, 2007; De la Torre Adarve *et al.*, 2008 e 2009; Pagano *et al.*, 2010a; Schmidely *et al.*, 2002).

Negli ultimi anni un interesse sempre crescente da parte della comunità scientifica è stato rivolto ai fenomeni d'interazione esistenti tra il livello nutrizionale della dieta (proteico ed energetico) e il polimorfismo per l' α_{S1} -CN.

In particolare, le recenti attività di ricerca si sono focalizzate sull'utilizzazione, da parte di capre con genotipo per un'alta e una bassa capacità di sintesi di α_{S1} -CN, delle proteine alimentari (De la Torre Adarve *et al.*, 2009), e del diverso livello energetico della dieta (Pagano *et al.*, 2010a). Le capre portatrici del genotipo forte hanno mostrato rispetto alle altre, una maggiore efficienza nell'utilizzazione a livello metabolico dell'azoto alimentare, con conseguente produzione di un latte a maggior contenuto proteico (De la Torre Adarve *et al.*, 2009) e una maggiore efficienza nella valorizzazione di diete più energetiche, migliorando sia la produzione di latte che di caseina e grasso (Pagano *et al.*, 2010a).

Una recente indagine condotta su capre Girgentane che si differenziavano per il genotipo per l' α_{S1} -CN e la k-CN ha, da un lato, confermato come gli alleli forti per l' α_{S1} -CN (AA) determinino, rispetto agli alleli deboli (FF), un aumento dell'efficienza di utilizzazione dell'azoto alimentare e, di conseguenza, della sintesi di caseina nel latte, suggerendo sue implicazioni a livello metabolico; dall'altro, tale indagine ha evidenziato, in capre con alleli forti per l' α_{S1} -CN, un forte effetto del genotipo per la k-CN sul contenuto in caseina e sui parametri di coagulazione del latte, i quali hanno mostrato un marcato miglioramento con il genotipo BB rispetto al genotipo AA, come si evince dalla riduzione dei tempi per la coagulazione (r) e per il rassodamento del coagulo (k_{20}) (Bonanno *et al.*, 2009).

3.3. La componente acidica del grasso del latte

Da un punto di vista nutrizionale il latte contiene sostanze di natura lipidica che esplicano un'azione positiva per la salute umana (acidi grassi mono e polinsaturi, acido linoleico coniugato o CLA, vitamina A). Per quanto riguarda gli aspetti tecnologici e organolettici, è noto il ruolo svolto dai lipidi nella definizione della resa del latte alla caseificazione e la loro influenza sulla consistenza e sugli aromi dei prodotti caseari. Le caratteristiche organolettiche di odore e sapore del formaggio, infatti, dipendono in larga misura dalla presenza di acidi grassi liberi a corta catena (C4-C10) (Antongiovanni *et al.*, 2003), mentre gli acidi grassi mono e polinsaturi, di cui è maggiormente dotato il grasso del latte ovino e caprino e dei prodotti derivati rispetto al bovino (Haenlein, 1998), conferiscono al formaggio una tessitura meno coesa e una pasta più morbida (Bugaud *et al.*, 2002).

I grassi del latte si presentano sotto forma di globuli rivestiti da una membrana che li mantiene in emulsione nel mezzo acquoso. Il latte caprino presenta una minore dimensione media del diametro dei globuli rispetto al vaccino (2,76 vs 4,5 μm), e questo determina una maggiore superficie specifica di esposizione (17,117 vs 21,778 cm^2/ml) (Attaie and Richter, 2000) che favorendo i processi di lipolisi contribuisce ad accrescere la digeribilità del latte del primo rispetto al secondo. La frazione lipidica del latte caprino è costituita quasi esclusivamente da trigliceridi (97-98%). Gli altri componenti sono rappresentati da digliceridi (0,28-0,59%), da fosfolipidi (0,21%) e da monogliceridi (0,02-0,04%) (Pulina *et al.*, 2005).

Gli acidi grassi e il glicerolo, che costituiscono i trigliceridi della materia grassa, derivano in gran parte dal circolo sanguigno, ma la restante parte è sintetizzata dalla mammella.

I trigliceridi presenti nell'alimento sono idrolizzati dalle lipasi microbiche, rilasciando gli acidi grassi che li costituiscono. La lipasi idrolizza completamente i trigliceridi ad acidi grassi e glicerolo, determinando piccoli accumuli di mono- e di-gliceridi. I lipidi presenti nel rumine non sono fermentati, ma subiscono un processo di idrogenazione ad opera di batteri ruminanti.

Infatti, l'accumulo degli acidi grassi insaturi (UFA) a livello ruminale determina un'azione tossica per le popolazioni microbiche, le quali, attivano meccanismi autoconservativi di bioidrogenazione. Queste sono favorite dall'ambiente fortemente riducente del rumine. Dal punto di vista biochimico la totale o parziale idrogenazione degli UFA che arrivano al rumine a mezzo della dieta si traduce nella riduzione dei doppi legami che trasformano gli acidi grassi insaturi in entrata negli omologhi a più alto e/o totale grado di saturazione. Tale meccanismo detossificante, piuttosto efficiente, converte circa il 70% degli UFA di origine alimentare (Mele *et al.*, 2007).

Quando il contenuto di fibra della razione diminuisce a favore di un maggior contenuto di concentrati, si riduce il numero di batteri cellulolitici che sono responsabili dei processi lipolitici e di bioidrogenazione. Altri fattori capaci di ridurre la bioidrogenazione e la lipolisi sono l'utilizzo di foraggi ad elevato stadio di maturazione e di alimenti troppo finemente macinati. In queste condizioni, infatti, diminuisce l'aderenza dei batteri alle particelle di alimento ed aumenta la loro velocità di transito (Mele *et al.*, 2005).

L'altro meccanismo di sintesi dei trigliceridi ha origine mammaria e precisamente nel reticolo endoplasmatico liscio delle cellule secernenti di questa ghiandola. I ruminanti sintetizzano i lipidi attraverso la via delle fermentazioni ruminanti e quella delle attività digestive post-ruminanti. La flora batterica presente nel rumine degrada parte dei nutrienti assunti dall'animale durante

l'alimentazione. I carboidrati, in particolare, subiscono fermentazioni che portano alla formazione di acidi grassi volatili (AGV) quali l'acido acetico, l'acido propionico e l'acido butirrico, che si presentano nella forma anionica. I tre prodotti dell'attività ruminale hanno origine da tre processi metabolici diversi, ma tutti hanno come punto di partenza la sintesi del fruttosio 6-fosfato e, successivamente, del piruvato. Da quest'ultimo si ottiene l'acetato attraverso la via dell'Acetil-fosfato, il propionato attraverso la via del Metilmalonil CoA e il butirrato tramite la via dell'Acetil CoA. Gli acidi grassi (AG) a media e corta catena (C4-C14) vengono sintetizzati *ex novo* utilizzando l'apporto ematico dell'acetato e del β -idrossibutirrato, di origine prevalentemente digestiva, e con l'intervento degli enzimi acetil-CoA-carbossilasi e sintetasi degli acidi grassi. Quindi, l'acetato ed il butirrato sono i precursori degli acidi grassi a media e corta catena nel latte e nel tessuto adiposo. Poiché le cellule della ghiandola mammaria non possiedono il pool enzimatico necessario ad allungare la catena carboniosa da 16 a 18 atomi di carbonio, la quota di acidi grassi neo sintetizzata si limita solo a quelli aventi corta e media catena, mentre la rimanente parte proviene direttamente dal flusso sanguigno (Chillard *et al* 2000; Mele *et al.*, 2005).

Tutti gli acidi grassi a catena più lunga di 18 atomi di carbonio devono essere somministrati all'animale con la razione che, pertanto, rappresenta il momento centrale nella definizione della frazione acidica a lunga catena del latte. Il maggior contenuto di AG preformati a livello ematico che sono trasferiti direttamente al latte deriva dall'idrolisi dei componenti dei trigliceridi trasportati da alcune lipoproteine a bassissima densità. L'insieme dei processi che vanno dal trasferimento degli acidi grassi dal plasma al tessuto mammario, a quelli di idrogenazione nel rumine e di digestione intestinale, contribuiscono a definire l'efficienza del trasferimento degli acidi grassi dalla dieta al latte.

Un aspetto importante e per certi versi peculiare della ghiandola mammaria è rappresentato dall'attività desaturasica capace di condizionare la fluidità del latte (Mele *et al.*, 2005). La ghiandola mammaria sembra essere il sito di maggiore attività della delta-9 desaturasi nei ruminanti in lattazione (Kinsella, 1972). Questo enzima, denominato pure Stearoyl CoA desaturasi, nella specie caprina così come nella bovina, è espresso dal gene omonimo (SCD) che si trova a livello del cromosoma 26 (Bernard *et al.*, 2001; Taniguchi *et al.*, 2003).

La ghiandola mammaria, come detto, pur non essendo in grado di sintetizzare acidi grassi a catena più lunga di 16 atomi di carbonio, grazie all'attività della SCD che introduce un doppio legame in posizione cis-delta-9 della catena carboniosa, riesce a convertire l'acido stearico in

acido oleico. Attraverso l'azione di questo enzima una quantità elevata dell'acido stearico (C18:0) viene convertita in acido oleico (C18:1 *cis*9), migliorando il rapporto fra i due acidi in modo tale da mantenere ottimali le caratteristiche chimico-fisiche del latte (Mele *et al.*, 2005).

L'attività desaturasica avviene anche a carico di altri acidi grassi quali: miristico (C14:0), palmitico (C16:0) e vaccenico; da quest'ultimo, in particolare, si ha la formazione dell'isomero coniugato *cis*9, *trans*11 dell'acido linoleico (acido rumenico). L'attività della SCD può essere stimata sulla base del rapporto tra l'acido grasso di partenza ed il corrispettivo desaturato (Bernard *et al.*, 2005; Lock e Garnsworthy, 2003). Tra questi, si ritiene che il migliore indicatore dell'attività desaturasica derivi dal rapporto acido miristoleico/miristico (C14:1/C14), poiché la totalità del C14:0 presente nel latte viene prodotto *de novo* dalla ghiandola mammaria, mentre gli altri substrati possono essere assorbiti dal flusso sanguigno (Lock e Garnsworthy, 2003).

L'attività della ghiandola mammaria, ed in particolare dei suoi enzimi lipogenetici, viene inibita dagli acidi grassi insaturi a lunga catena i quali disturberebbero l'attività dell'acetil-CoA carbossilasi, vero "rate limiting enzyme" della sintesi degli acidi grassi (Kitessa *et al.*, 2001). Gli acidi grassi poli-insaturi (PUFA) C20 e C22 riescono a ridurre il prelievo mammario degli acidi grassi insaturi a lunga catena dal circolo sanguigno, interferendo con le lipoproteine-lipasi della ghiandola (Mele *et al.*, 2005).

Recentemente per il latte, nell'ambito di studi sul fenomeno della "milk fat depression", è stato dimostrato un effetto specifico dell'isomero *trans*10, *cis*12 dell'acido linoleico coniugato e, presumibilmente, di tutti gli isomeri *trans*10 della famiglia dei C18, sugli enzimi lipogenetici della ghiandola mammaria (Baumgard *et al.*, 2000; Peterson *et al.*, 2004). Tale effetto non ha trovato nessuna conferma per il latte di capra (Sanz Sampelayo *et al.*, 2006).

- *L'acido linolenico coniugato (CLA)*:

I CLA sono una categoria di acidi grassi isomeri posizionali e geometrici dell'acido linoleico (LA) e presentano un sistema di doppi legami che possono avere configurazione *cis* o *trans*.

L'interesse per i CLA è maturato in questi anni in seguito alla scoperta dei loro potenziali effetti benefici sulla salute dell'uomo, tanto che la National Academy of Science ha definito il CLA come "l'unico acido grasso che mostra in maniera inequivocabile attività anticarcinogena in esperimenti condotti su animali" (McGuire *et al.*, 2000).

Le diverse attività biologiche del CLA si possono ricondurre alla sua capacità di influenzare il metabolismo lipidico. Infatti, il CLA è metabolizzato come l'acido linoleico, competendo con quest'ultimo per gli stessi enzimi. Questa competizione porta ad una diminuita incorporazione

dell'acido arachidonico, substrato della ciclossigenasi e delle lipossigenasi, enzimi necessari per la biosintesi degli eicosanoidi. Per quest'ultimi, è stata dimostrata una loro azione sia nel processo di cancerogenesi che in quello di aterogenesi. L'attività protettiva del CLA potrebbe essere spiegata probabilmente dalla diminuita produzione di eicosanoidi direttamente proporzionale all'apporto di CLA. Alcuni recenti studi sembrano dimostrare che il CLA possa modulare sia direttamente che indirettamente la formazione di endocannabinoidi, molecole anch'esse implicate nell'infiammazione e nella sindrome metabolica. Inoltre l'azione del CLA potrebbe essere correlata anche ad un'attivazione di particolari recettori nucleari, i PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor), capaci di influire sull'espressione di numerosi geni, tra i quali alcuni coinvolti nella regolazione del metabolismo lipidico (Carta *et al.*, 2008).

Nella capra la frazione lipidica del latte contiene una quantità apprezzabile di isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA). L'isomero più rappresentato nei lipidi del latte dei ruminanti è il *cis 9 trans 11* (acido rumenico, RA). La biosintesi di questo acido avviene attraverso due vie metaboliche: prevalentemente come prodotto intermedio delle reazioni di bioidrogenazione degli acidi grassi polinsaturi di origine alimentare nel rumine, il linoleico ed il linolenico (Chilliard *et al.*, 2000); secondariamente dalla desaturazione che avviene nella ghiandola mammaria a carico dell'acido transvaccenico (C18:1 *trans*-11) proveniente dal rumine (Corl *et al.*, 2001).

La sintesi ruminale inizia con l'isomerizzazione dell'acido linoleico (*cis*9 *cis*12 C18:2) ad ac. rumenico (CLA: *cis*9, *cis*11, C18:2). Questo passaggio viene catalizzato dall'enzima linoleico-isomerasi e non prevede l'aiuto di cofattori. L'enzima legato alla membrana cellulare batterica è molto selettivo perché riconosce solo dieni con stechiometria *cis*9 *cis*12, presenti a metà della catena carboniosa acidica e con gruppo funzionale carbossilico libero. Il passaggio successivo prevede la riduzione ovvero il passaggio da acido rumenico ad acido vaccenico (*trans* 11 C18:1). La successiva riduzione dell'acido vaccenico a stearico (C18:0), è un processo più lento rispetto alla formazione del *trans* 11 C18:1 dal rumenico, e questa discrasia consente il momentaneo accumulo del vaccenico nel rumine e il suo passaggio nel circolo sanguigno. Il passaggio successivo è l'arrivo dell'acido vaccenico alla ghiandola mammaria, dove può essere riconvertito per azione della delta-9 desaturasi. Tramite questa seconda via di formazione, viene sintetizzato circa l'80% dell'acido rumenico presente nel grasso del latte (Mele *et al.*, 2005).

Similmente alla bioidrogenazione dell'acido linoleico, avviene la riduzione del linolenico, ma in questo caso il primo prodotto intermedio è rappresentato dall'isomero coniugato dell'acido α -linolenico il *cis*9, *trans*11, *cis*15 C18:3 (Destailats *et al.*, 2005).

L'isomero predominante negli alimenti è l' α -linoleico (cis9, cis12, cis15 C18:3) che attraverso un processo riduttivo forma il *trans11* C18:1, il quale viene a sua volta convertito dalle cellule del tessuto mammario in CLA. Anche per il γ -linoleico (cis6, cis9, cis12 C18:3), meno presente, la fermentazione è del tutto analoga (Grinari and Bauman, 1999). In definitiva, quindi, normalmente, l'acido rumenico e il vaccenico rappresentano gli acidi *trans* più comuni nel grasso del latte dei ruminanti (Mele *et al.*, 2005).

Tra i fattori esogeni che nei ruminanti condizionano il contenuto di CLA nel latte l'habitus alimentare e la velocità di transito degli alimenti nel digerente sembrano essere i principali. La presenza di foraggio fresco nella razione rappresenta una fonte specifica di sostanze grasse capace di condizionare il contenuto di grasso nel latte. L'utilizzo del foraggio fresco stimola l'incremento del *cis9*, *trans11* CLA nel latte dei ruminanti in virtù dell'elevato contenuto in acido linolenico presente nelle piante verdi rispetto al fieno, dove i processi ossidativi derivanti dalla fienagione riducono in maniera significativa la quota degli acidi grassi polinsaturi originariamente presenti. Il tasso d'incremento del CLA nel latte varia in funzione della specie ruminante ma anche della qualità del foraggio fresco assunto (Nudda *et al.*, 2003; Secchiari *et al.*, 2004).

Recenti studi hanno confermato che un maggior apporto di erba fresca aumenta i livelli nel latte oltre che del CLA e del vaccenico, anche di alfa linolenico (ALA), precursore di omega-3 a lunga catena come l'EPA e il DHA, ipotizzando, inoltre, un effetto sinergico dell'ALA con il CLA. Tale sinergia determinerebbe un effetto negativo sul metabolismo degli acidi grassi insaturi, soprattutto su quelli della famiglia omega-6 come l'acido arachidonico, precursore di eicosanoidi e di endocannabinoidi, coinvolti nei processi infiammatori, proliferativi e metabolici (Carta *et al.*, 2008).

È quindi necessario sviluppare strategie alimentari che consentano di aumentare i livelli di questi acidi grassi nel latte in modo da ottenere un prodotto-alimento "funzionale" capace di prevenire l'insorgenza di diverse patologie.

4. Parte Sperimentale

Effetti della dieta su utilizzazione nutrizionale, risposte metabolico-ormonali, produzione e qualità del latte di capre Girgentane a diversa attitudine genetica alla sintesi di α_{S1} -caseina

4.1. Abstract

Goat polymorphism at α_{S1} -casein locus (CSN1S1) influences several milk production traits. According to literature, milk from goats carrying strong alleles, associated to high α_{S1} -casein synthesis, results higher in fat and casein and shows longer coagulation time, firmer curd and variations in fatty acid profile than milk from goats with weak alleles linked to low α_{S1} -casein. As these milk properties are also affected by nutrition, it is of some interest to contribute to the knowledge of the relationships between dietary characteristics and CSN1S1 genotype in goats. Therefore, this study was aimed to investigate the impact of fresh forage based diet and/or energy supplement on feeding behaviour, metabolic and hormonal parameters, oxidative stress and milk yield and quality of Girgentana goats with different genotype at CSN1S1 loci.

From a group of milking goats genotyped using specific PRC protocols at DNA level, 12 goats, averaging 37.2 ± 3.5 kg of live weight, were selected for having the same genotype at α_{S2} , β and κ -casein loci and differing for the CSN1S1 genotype (G): 6 goats were homozygous for a strong allele (AA) and 6 heterozygous for a weak alleles (AF). Goats of each genotype were allocated homogeneously, based on days in milking (50 or 120 days), to 3 sub-groups and fed *ad libitum* in individual pen with 3 diets, in a 3 x 3 Latin square design with 3 periods comprised of 14 days for adaptation and 7 days for data and samples collection. The diets (D) were sulla (*Hedysarum coronarium* L.) fresh forage (SFF), sulla fresh forage plus 800 g/d of barley meal (SFB), mixed hay plus 800 g/d of barley meal (MHB).

There was no significant effect of G and interaction GxD on dry matter (DM) and nutrients intake, glucose, NEFA, insulin, reactive oxygen metabolites (ROMs), biological antioxidant potential (BAP) and α -tocopherol content, milk composition and protein utilization for casein synthesis.

Goats with AA genotype at CSN1S1 loci showed higher crude protein (CP) digestibility and FT4 hormone level than AF goats. Moreover, AA milk was higher in α_{S1} -casein and short and

medium chain fatty acids (FA) (Σ C6-C14), lower in oleic acid (C18:1c9), and exhibited better clotting properties, due to longer coagulation time and higher curd firmness.

Significant interactions GxD indicated how AA goats, compared to AF goats, showed higher DM digestibility and milk yield when fed the more energetic SFB diet. The reduction of fT3 hormone and the lower synthesis of short and medium chain FA, occurred in AF goats when fed dry MHB or SFF diet, respectively, were not observed in AA goats.

Diet showed a more important effect than CSN1S1 genotype. SFB diet led to the highest energy intake, DM digestibility and milk yield. Fresh forage diets (SFF and SFB) increased DM and CP intake, CP digestibility, milk total casein and β -casein, and showed higher protection against oxidative stress (BAP) than MHB diet. The SFF diet improved health properties of fat milk by increasing the content in odd and branched chain FA, CLA (rumenic acid), monounsaturated, polyunsaturated and omega-3 FA. These FA modifications were attributed to the action of sulla condensed tannins in inhibiting the ruminal unsaturated FA biohydrogenation.

Energy supplemented diets (SFB and MHB) reduced milk fat and urea, improved the protein utilization for casein synthesis, increased ROMs and contributed to limit the body fat mobilization, indicated by lower NEFA level.

These results demonstrated how goats with a higher capacity for α_{S1} -casein synthesis exhibit a greater efficiency of energy and protein utilization, which was evident already at a digestive level, and better productive responses to high-nutritional diets, but affect weakly the milk fatty acid profile.

4.2. Introduzione

Come è noto, fattori di natura genetica e nutrizionale concorrono al determinismo della produzione, della composizione e delle proprietà tecnologiche del latte. Per quanto riguarda l'aspetto genetico, è ben noto come le caratteristiche del latte di capra dipendano fortemente dalle varianti genetiche delle principali proteine; in particolare, il polimorfismo dell' α_{S1} -caseina (α_{S1} -CN) ha un marcato effetto sui componenti del latte e, tra questi, soprattutto sulla caseina e quindi sulla sua attitudine casearia (Amigo *et al.*, 2000; Clark e Sherbon, 2000a; Clark e Sherbon, 2000b).

Gli studi sui polimorfismi lattoproteici della capra hanno evidenziato come il gene che codifica per l' α_{S1} -CN (CSN1S1) manifesti un elevato polimorfismo; infatti, negli anni, sono stati evidenziati ben 17 alleli classificati in quattro gruppi associati a differenti tassi di sintesi di caseina: alleli forti (A, B1, B2, B3, B4, C, H, L, M) intermedi (E ed I) e deboli (D, F e G) che sintetizzano rispettivamente un alto (circa 3,5 g/l), medio (circa 1,1 g/l), e basso (0,45 g/l) quantitativo di α_{S1} -CN, più alleli nulli (01, 02 e N) che non sintetizzano α_{S1} -CN (Sacchi *et al.*, 2005).

Il latte di capre portatrici di alleli forti, associati ad un alto contenuto in α_{S1} -CN, presenta maggiori percentuali di caseina, grasso, calcio e fosforo, e un minore diametro delle micelle caseiniche rispetto alle capre con alleli deboli associati ad una bassa sintesi di α_{S1} -CN, aspetti che nell'insieme aumentano la velocità di formazione e la consistenza del coagulo (Clark e Sherbon, 2000a; Grosclaude *et al.*, 1987; Mahè e Grosclaude, 1993). È stato inoltre evidenziato che il latte di capre omozigoti AA sia caratterizzato da un sapore e un odore meno intenso rispetto a individui omozigoti FF (Remeuf, 1993). Più recentemente è emerso anche che il polimorfismo al locus CSN1S1 influenza la composizione acidica del grasso del latte, in particolare il contenuto in acidi grassi a corta e media catena, e l'attività della delta-9 desaturasi (Chilliard *et al.*, 2006; Valenti *et al.*, 2010).

Ritenuto che le caratteristiche nutrizionali della dieta somministrata agli animali esercitano anch'esse una forte influenza sulla produzione e sulle proprietà del latte, vi è un certo interesse allo studio delle relazioni che legano il polimorfismo genetico delle caseine con l'alimentazione delle capre, ovvero allo studio della espressione fenotipica dei geni che codificano per l' α_{S1} -CN in funzione dell'alimentazione.

Studi recenti, volti a verificare le eventuali relazioni tra genotipo per l' α_{S1} -CN e l'alimentazione delle capre, hanno evidenziato come gli individui omozigoti per gli alleli forti (AA) dell' α_{S1} -CN,

rispetto a quelli con alleli deboli (FF), mostrino una maggiore efficienza di utilizzazione della componente proteica della dieta (De la Torre Adarve *et al.*, 2009; Schmidely *et al.*, 2002), e rispondano meglio a maggiori apporti energetici in termini di produzione (Pagano *et al.*, 2010a), profilo caseinico (Valenti *et al.*, 2011) e composizione acidica del latte (Valenti *et al.*, 2010); tali risultati sembrano dipendere più da un diverso assetto ormonale che non da una dissimile efficienza metabolica tra le capre dei due genotipi (Pagano *et al.*, 2010a; Pagano *et al.*, 2010b). Poche ricerche, invece, sono state rivolte allo studio degli effetti dell'alimentazione sullo stress ossidativo delle capre in lattazione in funzione del loro genotipo per l' α_{S1} -CN (Di Trana *et al.*, 2011).

La finalità di questa ricerca è, pertanto, quella di contribuire ulteriormente alla conoscenza delle relazioni che legano il genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e l'alimentazione. Il proposito è quello di verificare se le differenze produttive osservate nelle capre con diversa attitudine genetica alla sintesi dell' α_{S1} -CN dipendano dalla loro diversa efficienza di utilizzazione alimentare o da un diverso status metabolico-ormonale, oppure se la somministrazione di diete adeguate a soddisfare i fabbisogni energetici e proteici ne attenui le differenze. Più in generale, l'intendimento è quello di ottenere indicazioni che potrebbero utilmente indirizzare il lavoro di selezione delle razze caprine per l'affermazione di genotipi che alla produttività quantitativa associno anche la massima efficienza nell'utilizzazione degli alimenti esercitando, quindi, un minore impatto sull'ambiente.

Si è, pertanto, indagato sugli effetti di differenti apporti energetici e proteici con la dieta sulle risposte nutrizionali, metaboliche, ormonali e produttive di capre Girgentane in funzione del loro diverso genotipo per l' α_{S1} -CN. A tal fine, sono state messe a confronto capre con genotipi associati ad un livello alto o intermedio di sintesi di α_{S1} -CN, l'uno omozigote per gli alleli forti (AA) e l'altro eterozigote per un allele debole (AF). La scelta del genotipo eterozigote è stata dettata, innanzitutto, dall'assenza nel nucleo indagato di capre omozigoti per gli alleli deboli, probabilmente per l'effetto della selezione fenotipica operata nel tempo dagli allevatori; ma è nata anche dalla constatazione della esigua presenza, in letteratura, di indagini che riguardano il genotipo eterozigote per l' α_{S1} -CN che associa un allele forte con un allele debole, la cui frequenza negli allevamenti risulta ancora abbastanza elevata.

In particolare, nella prova, viene valutato l'effetto di una dieta a base di foraggio fresco di sulla (*Hedysarum coronarium* L.), integrato o meno con un concentrato energetico costituito da orzo, su ingestione alimentare, utilizzazione digestiva, risposte metabolico-ormonali, condizione di

stress ossidativo, produzione, profilo caseinico e composizione acidica del latte di capre in funzione della loro diversa attitudine genetica alla sintesi di α_{S1} -CN.

La sulla è una leguminosa foraggera largamente diffusa nel meridione d'Italia, fortemente apprezzata per i positivi effetti che, per la sua composizione e il suo moderato contenuto in tannini condensati, esplica sulla produttività degli animali, come dimostrato sia su pecore (Bonanno *et al.*, 2007a; Molle *et al.*, 2003; Molle *et al.*, 2009) sia su capre in lattazione (Bonanno *et al.*, 2007b).

4.3. Materiali e metodi

4.3.1. Animali e disegno sperimentale

La prova è stata condotta presso un allevamento nel territorio di Santa Margherita Belice, in provincia di Agrigento, per una durata di 11 settimane, nel periodo compreso tra marzo e maggio del 2010.

Lo studio ha previsto la genotipizzazione di 40 capre in lattazione per l' α_{S1} -CN, l' α_{S2} -CN, la β -CN e la k-CN, utilizzando specifici protocolli PCR (Polymerase chain reaction) a livello di DNA (Caroli *et al.*, 2006; Gigli *et al.*, 2008; Ramunno *et al.*, 2000; Sacchi *et al.*, 2005).

Tra le capre tipizzate non è stato riscontrato nessun soggetto con genotipo omozigote per gli alleli deboli (D, F e G). Pertanto, dal nucleo di capre tipizzate geneticamente sono stati individuati 12 soggetti in lattazione (50 o 120 d), con peso vivo medio iniziale di circa 37 kg e con analogo genotipo per α_{S2} -CN (AA), β -CN (AA) e k-CN (AA).

Da questi è stato possibile formare due gruppi omogenei per stadio di lattazione e differenti per il genotipo al locus dell' α_{S1} -CN, l'uno "forte" caratterizzato da alleli forti in omozigosi (AA) e per questo associato ad un alto livello di sintesi di α_{S1} -CN, e l'altro "intermedio" rappresentato dall'eterozigosi dovuta alla combinazione tra un allele forte ed un allele debole (AF), da cui deriva un minore livello di sintesi di α_{S1} -CN.

Per il controllo della quantità e della qualità dell'ingestione alimentare, le capre sono state alloggiate per l'intero periodo sperimentale in ampi box individuali posti all'interno di un ricovero chiuso.

Dopo un periodo di due settimane di adattamento alle mutate condizioni di stabulazione, sono stati formati due blocchi di 6 capre per ciascun genotipo. All'interno di ciascun blocco le capre sono state ripartite, omogeneamente in base alla fase di lattazione (50 o 120 d), in tre gruppi che

ricevevano in successione 3 diverse diete, seguendo uno schema a quadrato latino 3x3 per fasi di 21 d (14 d di adattamento alle diete e 7 d di sperimentazione).

Le 3 diete sperimentali, corrispondenti a diversi livelli energetici e proteici, erano rispettivamente costituite da foraggio verde di sulla a volontà (**SV**), foraggio verde di sulla a volontà integrato con 800 g di orzo (**SVO**), fieno misto a volontà e 800 g orzo (**FMO**).

Il foraggio verde di sulla veniva sfalciato giornalmente in campo di mattina e somministrato in mangiatoia, previa grossolana trinciatura, in due momenti della giornata, tarda mattinata e tardo pomeriggio, mentre l'integrazione con orzo tal quale, dove prevista, veniva suddivisa nei due pasti.

4.3.2. Rilievi, campionamenti ed analisi

Alla fine ed all'inizio di ogni fase, su tutte le capre sono stati rilevati il peso vivo e l'indice di condizione corporea (BCS, body condition score) e prelevati i campioni di feci direttamente dal retto.

Nel corso di ciascuna fase sperimentale, per ogni capra sono stati giornalmente pesati e campionati gli alimenti somministrati e residui e la produzione di latte (relativa alle due mungiture del mattino e della sera).

Sui campioni di sulla verde somministrata e residua è stata effettuata la separazione delle parti botaniche della pianta (foglie, fiori, piccioli e steli) per potere stimare, sulla base della loro incidenza e della loro composizione chimica, la qualità del foraggio ingerito.

Su tutti i campioni di alimenti e parti botaniche della sulla sono state effettuate le analisi per la determinazione di sostanza secca, proteina grezza, estratto etereo, ceneri (AOAC, 1995) e carboidrati strutturali (NDF, ADF, ADL) (Van Soest *et al.*, 1991), e ne è stato stimato il valore energetico, espresso in Mcal di energia netta per la lattazione (EN_L), utilizzando apposite equazioni del NRC (National Research Council, 2001) basate sulla digeribilità e sul tenore in ADF. Inoltre, sui campioni di sulla verde è stata eseguita la determinazione dei tannini condensati allo spettrofotometro usando il metodo a base di butanolo ed acido cloridrico (Porter *et al.*, 1986) e la delfinidina come standard di riferimento (Tava *et al.*, 2005).

Sulle feci si è determinato il contenuto in azoto e lignina (ADL). Utilizzando l'ADL come marcatore (Cochran *et al.*, 1986; Cochran *et al.*, 1988; Sunvold e Cochran, 1991) e i dati di recupero fecale della stessa ADL, derivati da una precedente prova di digeribilità *in vivo* (Leto *et*

al., 1989), è stato possibile stimare la digeribilità della dieta per quanto riguarda la sostanza secca, l'azoto e, quindi, la proteina.

Alla fine del periodo pre-sperimentale e alla fine di ogni fase, da ciascuna capra, la mattina a digiuno, sono stati eseguiti i prelievi ematici dalla vena giugulare usando provette vacu-tainer contenenti litio eparina come anticoagulante per ottenere il plasma (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). Il glucosio ematico è stato immediatamente rilevato sul sangue fresco usando il misuratore elettronico Accu-chek Aviva (Roche Diagnostics Spa). Le provette con sangue eparinato sono state, quindi, conservate a bassa temperatura; dopo poche ore, necessarie per il trasporto in laboratorio, il plasma è stato centrifugato a 3000 rpm per 10 minuti a 4 °C in centrifuga refrigerata. Fino al momento dell'esecuzione delle analisi, tutte le aliquote preparate sono state conservate alla temperatura di -80 °C. Le analisi sono state effettuate presso il laboratorio del Dipartimento di Scienze delle Produzioni Animali dell'Università degli Studi della Basilicata, a Potenza, sotto la guida della Prof.ssa Adriana Di Trana. Lo stato metabolico-nutrizionale delle capre è stato valutato attraverso il dosaggio di parametri indicatori del metabolismo energetico, come il glucosio, già menzionato, e gli acidi grassi non esterificati (NEFA), determinati mediante il kit commerciale FA 115 (Randox Laboratories, Crumlin, Antrim, UK). È stata, quindi, determinata, mediante kit ELISA commerciali, la concentrazione plasmatica di alcuni ormoni collegati allo stato nutrizionale degli animali come l'insulina (Merckodia, Uppsala, Svezia) e gli ormoni tiroidei fT3 (free triiodothyronine) ed fT4 (free thyroxine) (Diametra, Milano, Italia). Sono stati, infine, misurati alcuni parametri biomarcatori della condizione di stress ossidativo, come i metaboliti reattivi all'ossigeno (ROMs, Reactive Oxygen Metabolites), la barriera antiossidante totale (BAP-test, Biological Antioxidant Potential) e l' α -tocoferolo o vitamina E. La determinazione della concentrazione dei ROMs e il BAP-test nel plasma sono stati eseguiti usando kit commerciali (Diacron International, Grosseto, Italia). Il livello plasmatico di α -tocoferolo è stato misurato mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography), secondo il metodo descritto da McMurray and Blanchflower (1979).

I campioni di latte individuale sono stati analizzati per la determinazione di lattosio, grasso e cellule somatiche (CCS) con il metodo all'infrarosso (Combi-foss 6000, Foss Italia); carica microbica totale (CMT) mediante Bactoscan (Foss Italia); pH con phmetro HI 9025 (Hanna Instruments, USA); acidità titolabile con metodo Soxhlet-Henkel ($^{\circ}$ SH/50 mL); urea, con metodo enzimatico basato sulla differenza in pH (CL-10 Plus, Eurochem, Italia).

Per la determinazione delle frazioni proteiche (caseina, sieroproteine e azoto non proteico) sono stati determinati l'azoto totale (NT), l'azoto non caseinico (NNC) e l'azoto non proteico (NNP) attraverso le procedure standard FIL-IDF (1964, 1993). Da questi componenti azotati sono state calcolate la proteina totale ($NT \cdot 6,38$), le sieroproteine ($(NNC - NNP) \cdot 6,38$) e la caseina ($(NT - (NNC \cdot 0,994)) \cdot 6,38$).

La separazione e la quantificazione delle diverse caseine nel latte (α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, β -CN e k -CN) è stata effettuata mediante analisi diretta del latte con HPLC a fase inversa (RP-HPLC = Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography) (Bonizzi *et al.*, 2009). Le frazioni purificate di α_S -CN 90%, β -CN 98% e k -CN 98% estratte da latte bovino utilizzate come standard, l'acido trifluoroacetico, l'acqua, l'acetonitrile, tutti di grado puro per HPLC, e i reagenti utilizzati sono stati reperiti presso la Sigma-Aldrich (Milano, Italia). La soluzione madre per le singole frazioni è stata preparata sciogliendo rispettivamente 249,4 g di α_S -CN, 255,2 g di β -CN e 51,7 di k -CN in 10 ml di soluzione denaturante contenente urea 8 M, Tris 0,2 mM, sodio citrato 44 mM e β -mercaptoetanolo allo 0,3% (v/v). Una soluzione madre mix è stata preparata miscelando 1 ml di ogni soluzione madre delle singole frazioni caseiniche con 2 ml di soluzione denaturante, apportando per ogni frazione proteica un fattore di diluizione 5. Successivamente sono state preparate quattro soluzioni mix diversamente concentrate, utilizzate per la costruzione delle curve di calibrazione a quattro livelli per ogni singola frazione proteica. Le frazioni α_{S1} -CN e α_{S2} -CN non sono disponibili singolarmente in commercio, quindi le corrispondenti concentrazioni sono state calcolate, nota la loro presenza nel latte bovino, secondo un rapporto proporzionale di 4:1. Tutti i campioni di latte sono stati liofilizzati e conservati a -4 °C, e pesati prima e dopo la liofilizzazione in modo da determinare il contenuto percentuale di acqua. Preliminarmente all'analisi, i campioni di latte liofilizzato sono stati portati in soluzione aggiungendo un corrispondente volume di acqua distillata. Il campione è stato omogeneizzato mediante agitatore Vortex e i grassi contenuti sono stati rimossi mediante centrifugazione a 1000 giri per 10 min a 4 °C. Un volume di 400 μ l di latte è stato diluito con 1,6 ml di soluzione denaturante. I campioni diluiti sono stati filtrati mediante filtri a membrana cellulosa da 0,45 μ m e analizzati direttamente. Al fine di garantire l'analisi delle frazioni caseiniche in condizione di ripetibilità ristretta tutti i campioni di latte sono stati analizzati in doppio. Il sistema cromatografico utilizzato consiste di un degasatore DGU-20A5, di un Cromatografo Liquido LC-20AT, di un autocampionatore SIL-20A HT, di un forno per colonna CTO-20A e di un rivelatore UV/VIS SPD-20A (Shimadzu, Tokyo, Japan). La separazione

cromatografia è stata effettuata utilizzando una colonna Jupiter C4 (250 mm×4,6 mm, dimensione dei pori 300 Å, dimensione particelle 5 µm; Phenomenex, Torrance, CA, USA) mantenuta a temperatura costante. La lunghezza d'onda di determinazione del rivelatore era di 220 nm. Le analisi sono state effettuate apportando un profilo di gradiente binario alla composizione delle fasi mobili. L'eluente A era una soluzione di acqua per HPLC allo 0,1% (V/V) in acido trifluoroacetico (TFA) mentre l'eluente B era una soluzione di acetonitrile per HPLC allo 0,1% (V/V) di acido trifluoroacetico (TFA).

Il programma di eluizione a gradiente, ad un flusso costante di 0,8 ml/min, è stato costruito come segue: 0–40 min gradiente lineare da 30% di fase mobile B al 50% di B; 40–42 min gradiente lineare da 50% di B a 100% di B; 42–43 min eluizione isocratica al 100% di B; 43–46 min gradiente lineare da 100% di B al 30% di B, seguito da 5 min di eluizione isocratica alle condizioni iniziali. La durata complessiva di una corsa singola era di 51 min includendo la fase di riequilibrio della colonna. In figura 1 è mostrato un cromatogramma ottenuto dall'analisi di una soluzione mix contenente k-CN, α_{S2} -CN, α_{S1} -CN e β -CN. La quantificazione delle frazioni caseiniche nei campioni di latte in analisi avviene confrontando l'area sottesa dei picchi delle singole frazioni nel campione con quella negli standard utilizzati per la costruzione delle curve di calibrazione (figure 2 e 3).

Per quantificare l'attitudine alla trasformazione casearia del latte, i parametri elastometrici, quali il tempo di coagulazione (r , min), la velocità di rassodamento del coagulo (k_{20} , min) e la consistenza della cagliata dopo trenta minuti dall'aggiunta del caglio (a_{30} , mm) sono stati misurati, secondo Zannoni e Annibaldi (1981), in 10 ml di latte intero a 35 °C cui erano stati aggiunti 0,2 ml di una soluzione diluita (1,6:100) di caglio (1:15.000; Chr. Hansen, Parma, Italia), usando l'apparecchiatura Formagraph (Foss Italia).

Sul latte è stata determinata la composizione in acidi grassi. Campioni di 100 mg di latte liofilizzato sono stati direttamente metilati aggiungendo 1 ml di esano e 2 ml di metilato di sodio 0,5 M (NaOCH₃), quindi riscaldandoli a 50 °C per 15 min, aggiungendo ancora 1 ml di HCl al 5% in metanolo, e riscaldandoli nuovamente a 50 °C per 15 min (Loor *et al.*, 2002). Gli esteri metilici degli acidi grassi, diluiti in 1,5 ml di esano, sono stati iniettati mediante auto-campionatore in un gascromatografo HP 6890 con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) e separati usando una colonna capillare di 100 m di lunghezza e 0,25 mm di diametro interno (CP-Sil 88, Chrompack, Middelburg, The Netherlands). La temperatura dell'iniettore è stata tenuta a 255 °C e la temperatura del rivelatore

a 250 °C con un flusso di H² di 40 ml/minuto, un flusso di aria di 400 ml/minuto ed un flusso make up costante di He di 45 ml/minuto. La temperatura iniziale del forno è stata: tenuta a 70 °C per 1 min; aumentata di 5 °C/min fino alla temperatura di 100 °C tenuta per 2 min; aumentata di 10 °C/min fino alla temperatura di 175 °C tenuta per 40 min; aumentata di 5 °C/min fino alla temperature finale di 225 °C, tenuta per 45 min. L'elio è stato impiegato come gas di trasporto, con una pressione di 23 psi ed un flusso di trasporto di 0,7 ml/minuto (velocità lineare di 14 cm/sec). Gli acidi grassi sono stati identificati mediante il confronto dei tempi di ritenzione con quelli di miscele standard (Nu-Chek-Prep, Inc., Elysian, MN, USA) e quantificati aggiungendo il C23:0 (Sigma-Aldrich, Milano, Italia) come standard interno alla concentrazione di 4 mg/g di latte liofilizzato. L'identificazione degli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA) è stata effettuata usando una miscela di esteri metilici degli acidi C18:2c9t11 e C18:2c10t12. L'indice aterogenico è stato calcolato con la formula di Ulbricht e Southgate (1991): (C12:0% + 4 x C14:0% + C16:0%) / Σ acidi grassi insaturi %. L'Health Promoting Index rappresenta la formula inversa alla precedente, come suggerito da Chen et al. (2004): Σ acidi grassi insaturi % / (C12:0% + 4 x C14:0% + C16:0%).

4.3.3. Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati è stata condotta utilizzando la procedura MIXED del software SAS 9.1.2 (2004), secondo un modello misto avente come fattori fissi la fase sperimentale (1, 2, 3), lo stadio di lattazione (50 e 120 giorni), il genotipo (G: AA e AF), la dieta (D: SV, SVO e FMO) e la loro interazione (G*D), mentre la capra è stata considerata come fattore casuale e utilizzato come termine di errore. I dati del periodo pre-sperimentale relativi alla produzione di latte ed ai parametri ematici sono stati usati come covariate solo quando significative. I valori di CCS e CMT sono stati riportati in forma logaritmica (log₁₀). Le medie sono state confrontate con il test di Tukey.

4.4. Risultati e discussione

4.4.1. Ingestione alimentare e digeribilità

Nel corso della prova, il peso vivo ed il BCS delle capre non hanno subito variazioni per effetto del genotipo per l'α_{S1}-CN o della dieta (tabella 1).

Riguardo al comportamento alimentare delle capre (tabella 2), si è osservato come l'ingestione di sostanza secca e dei principali nutrienti sia stata fortemente influenzata dalla dieta, così come era

da prevedere, mentre non è emerso un effetto significativo del genotipo per l' α_{S1} -CN e dell'interazione. Ad analoghi risultati sono pervenuti Pagano *et al.* (2010a) e Bonanno *et al.* (2007c); questi ultimi non hanno evidenziato alcuna differenza nell'ingestione di sostanza secca tra le capre con genotipo forte (AA) e intermedio (AF) per l' α_{S1} -CN, in linea con questa prova, mentre hanno rilevato una minore ingestione nelle capre con genotipo debole (FF).

In relazione all'effetto della dieta (tabella 2), il foraggio fresco di sulla ha favorito, rispetto al fieno, l'ingestione di sostanza secca, indipendentemente dall'integrazione energetica con orzo. Al tempo stesso, l'ingestione di proteina, così come quella dei tannini condensati, ha mostrato incrementi all'aumentare del livello di foraggio fresco consumato. Con la dieta a base esclusiva di foraggio fresco di sulla si è avuta la massima assunzione di fibra, cui è seguita quella riscontrata con il fieno, mentre quando la sulla è stata integrata con il concentrato energetico, per effetto della minore assunzione di fibra, si è registrato il maggiore livello di ingestione di energia ed un medio e più equilibrato rapporto proteina-energia. Tali risultati confermano il positivo effetto del foraggio di sulla sull'ingestione volontaria di sostanza secca (Bonanno *et al.*, 2007a; Molle *et al.*, 2003), effetto che è ascrivibile alla sua elevata dotazione proteica, unitamente al basso tenore in NDF, ma anche al maggiore rapporto tra carboidrati fermentescibili e carboidrati strutturali (Burke *et al.*, 2004).

Risultati interessanti, che peraltro non trovano riscontro in letteratura, sono quelli emersi per la digeribilità della dieta (tabella 2). Sia per la sostanza secca che per la proteina, la digeribilità è stata fortemente condizionata dal regime alimentare, con valori massimi registrati con la dieta di sulla e orzo, e più bassi con il fieno. La digeribilità delle proteine è stata, inoltre, influenzata in maniera significativa dal genotipo, il cui effetto si è manifestato in una maggiore capacità digestiva delle capre con alleli forti, risultato che si contrappone a quanto rilevato da De la Torre Adarve *et al.* (2008) e Schmidely *et al.* (2002) che non hanno invece registrato un analogo effetto del genotipo sulla digeribilità dell'azoto alimentare. Per la digeribilità della sostanza secca, e tendenzialmente anche per quella della proteina, è emersa anche la significatività dell'interazione tra genotipo e dieta. Nella tabella 2 ed in figura 4, si osserva come, per la sostanza secca, la migliore capacità digestiva delle capre con alleli forti sia emersa solo con la dieta con sulla e orzo, che è la più energetica e, presumibilmente, quella nutrizionalmente più equilibrata. Per la proteina, invece, la capacità digestiva delle capre con alleli forti è risultata tendenzialmente superiore con le diete più proteiche a base di foraggio fresco di sulla, mentre

non è emersa con la dieta con fieno, caratterizzata per altro dal minore rapporto tra proteina ed energia e tra proteina e fibra (tabella 2).

Questi risultati confermano come le capre con alleli forti per l' α_{S1} -CN rispondano meglio ai maggiori apporti energetici (Pagano *et al.*, 2010a) e mostrino una maggiore utilizzazione della componente proteica della dieta (De la Torre Adarve *et al.*, 2008; Schmidely *et al.*, 2002), ma indicherebbero come la superiore efficienza di utilizzazione energetica e proteica si manifesti già a livello digestivo. Volendo avanzare un'ipotesi, tale circostanza potrebbe ricondursi ad una positiva influenza del genotipo forte sulla espressione di geni che codificano per la sintesi di enzimi digestivi a livello intestinale, piuttosto che a implicazioni a livello ruminale o mammario.

4.4.2. Indicatori metabolici, ormonali e dello stress ossidativo

I parametri metabolici, gli ormoni e gli indicatori dello stress ossidativo sono riportati in tabella 3.

Per quanto riguarda la concentrazione plasmatica degli indicatori del metabolismo energetico, il glucosio non ha mostrato variazioni per effetto dei fattori considerati. I NEFA sono stati influenzati dalla dieta ma non dal genotipo; a tal proposito, la maggiore concentrazione di NEFA rilevata nelle capre che ricevevano le diete con solo foraggio di sulla indica come queste abbiano compensato il deficit energetico mobilizzando i tessuti adiposi di riserva, e come invece l'integrazione energetica con orzo abbia consentito di limitare il ricorso alle riserve corporee.

L'insulina non si è differenziata per effetto del genotipo o della dieta. Altri autori (Pagano *et al.*, 2010b) hanno rilevato per l'insulina un maggiore livello nelle capre con genotipo forte AA per l' α_{S1} -CN rispetto a quelle con genotipo debole FF, ma nessun effetto della dieta; Schmidely *et al.* (1997) non hanno invece trovato differenze per l'insulina tra i genotipi AA e FF.

Entrambi gli ormoni tiroidei fT3 ed fT4 sono stati invece influenzati dal genotipo. Per l'fT3 l'effetto del genotipo, che è emerso solo a livello di tendenza ($P \leq 0,10$), si è manifestato per il minore livello nelle capre con genotipo eterozigote per l' α_{S1} -CN; per questo parametro si è anche registrata una interazione significativa tra genotipo e dieta (tabella 3 e figura 5), dovuta al fatto che la riduzione dell'ormone nelle capre con genotipo AF alimentate con la dieta a base di fieno non si è osservata nelle capre AA. L'fT4 delle capre con genotipo eterozigote è invece risultato maggiore rispetto a quello delle capre con alleli forti.

L'effetto sugli ormoni tiroidei del genotipo per l' α_{S1} -CN delle capre è stato indagato solo da Pagano *et al.* (2010b) che hanno potuto rilevare, in analogia a quanto emerso in questa prova, un

maggior valore di fT3 nelle capre con genotipo AA rispetto a quelle con genotipo FF, ed un'interazione significativa tra dieta e genotipo dovuta alla maggior concentrazione dell'ormone nelle capre AA con la dieta piú energetica; gli stessi autori non hanno invece rilevato alcun effetto per l'fT4.

Gli ormoni tiroidei sono considerati indicatori dello stato metabolico e nutrizionale degli animali e nelle specie ruminanti sono positivamente correlati con l'ingestione alimentare e con il bilancio energetico e azotato; negli ovini adulti, la carenza energetica riduce la concentrazione di T3 ed fT3, mentre la successiva supernutrizione li aumenta (Todini, 2007). La piú alta concentrazione plasmatica di fT3 nelle capre con genotipo forte, caratterizzate da una maggior produttività, potrebbe essere quindi spiegata dalle loro maggiori esigenze energetiche e proteiche che, in questa prova, sembrano garantiti piú dalla maggior digeribilità che non dalla maggior ingestione alimentare.

Tali risultati sembrano indicare, come suggeriscono Pagano *et al.* (2010b), che alla base delle diversità tra genotipi per l' α_{S1} -CN delle capre, il ruolo svolto dalla componente ormonale sia prevalente su quella metabolica.

Per i parametri biomarcatori della condizione di stress ossidativo, né il genotipo né l'interazione del genotipo con la dieta hanno mostrato un effetto significativo, come anche osservato da Di Trana *et al.* (2011). L'influenza del trattamento alimentare è invece emerso per i metaboliti reattivi all'ossigeno (ROMs) e per il potenziale antiossidante (BAP), sebbene per il primo solo a livello di tendenza; l' α -tocoferolo, invece, non ha subito variazioni in funzione della dieta. I risultati mostrano che i ROMs, che sono considerati indicatori della produzione di radicali liberi (Miller *et al.*, 1993), sono risultati superiori nelle capre che usufruivano dell'integrazione con concentrato, mentre il BAP è aumentato nelle capre alimentate con foraggio fresco di sulla rispetto a quelle che ricevevano il fieno. Pertanto, l'integrazione energetica con il concentrato sembra favorire l'aumento dei radicali liberi, mentre il foraggio fresco sembra potenziare la protezione antiossidante.

Analoghi effetti sono stati osservati da Di Trana *et al.* (2011), sebbene tali autori riportino un effetto della dieta anche sul livello di α -tocoferolo che, peraltro, per la sua azione antiossidante, è risultato correlato negativamente con i ROMs e positivamente con il BAP.

I ROMs si originano in seguito a reazioni metaboliche a livello cellulare e, se prodotti in eccesso o piú rapidamente rispetto alla capacità di bloccarli attraverso meccanismi antiossidanti, provocano uno stato di stress ossidativo che, come è ben noto, contribuisce all'insorgenza di

disordini metabolici interferendo, per questo, sulle funzioni fisiologiche e sulla produttività nelle specie animali allevate (Miller *et al.*, 1993).

L'attività dei biomarcatori dello stress ossidativo nelle capre in lattazione è stato oggetto di poche indagini (Di Trana *et al.*, 2006; Di Trana *et al.*, 2011). Tuttavia questi studi, come anche i risultati ottenuti in questa prova, rendono possibile evidenziare l'effetto ininfluenza del genotipo sullo stato di stress ossidativo; ma soprattutto confermano come l'alimentazione possa svolgere un ruolo determinante nel contrastare lo stress ossidativo (Aurousseau, 2002).

4.4.3. Produzione e composizione del latte

Anche le prestazioni produttive delle capre (tabella 4), così come il comportamento alimentare, hanno subito un più marcato effetto della dieta piuttosto che del genotipo. Infatti, la produzione di latte è aumentata passando dalla dieta esclusivamente foraggera a quella con fieno, fino al maggiore livello corrispondente alla dieta più energetica in cui il foraggio verde di sulla è stato integrato con orzo. In termini di latte corretto al 3,5% di grasso, le produzioni di latte dei gruppi alimentati con sulla e fieno non si sono differenziate, ma sono sempre risultate inferiori a quella delle capre che ricevevano sulla e orzo.

Il mancato effetto del genotipo per l' α_{S1} -CN sulla produzione di latte delle capre è stato frequentemente rilevato in letteratura. Infatti, l'assenza di differenze produttive in capre con genotipo forte (AA) e debole (FF) è riportata da Bonanno *et al.* (2009), Chilliard *et al.* (2006), De la Torre Adarve *et al.* (2009) e Schmidely *et al.* (2002); solo Avondo *et al.* (2009b) hanno registrato, di contro, una maggiore produzione di latte del genotipo forte rispetto al debole. Quando è stato considerato il genotipo intermedio (AF), Bonanno *et al.* (2007c) riportano analoghe produzioni dei genotipi AA e AF, che a loro volta sono risultate entrambe superiori rispetto a quella del genotipo debole; Pagano *et al.* (2010a), invece, hanno registrato un aumento produttivo del genotipo forte rispetto a quelli debole ed intermedio, che non si sono differenziati tra loro. Tali discordanze possono spiegarsi ammettendo che le risposte produttive di capre caratterizzate da un diverso genotipo per l' α_{S1} -CN si differenzino in dipendenza del tipo di apporti alimentari. Infatti, nonostante per la produzione di latte non sia emerso l'effetto del genotipo, è stata riscontrata un'interazione significativa del genotipo con la dieta, in analogia a quanto riportato da De la Torre Adarve *et al.* (2009) e Pagano *et al.* (2010a). A tal proposito, i dati in tabella 4 e la figura 6 mettono in evidenza come la superiorità produttiva del genotipo AA, rispetto al genotipo AF, si manifesti solo con la dieta più energetica a base di foraggio di

sulla e orzo (1720 vs 1606 g/d; $P < 0,05$). Da notare come nelle capre con genotipo forte il divario produttivo indotto dalla dieta con sulla e orzo rispetto alle altre diete sia arrivato ai massimi livelli, attestandosi su oltre 350 g/d, mentre il divario tra le diete si è ridotto sensibilmente nelle capre con genotipo intermedio. Questi risultati confermano, in accordo con altri autori (De la Torre Adarve *et al.*, 2009 e Pagano *et al.*, 2010a) come le capre portatrici del genotipo forte rispondano meglio alla somministrazione di diete più energetiche e bilanciate per il tenore proteico.

In relazione alla composizione e qualità del latte (tabella 4), solo i parametri citologici, ovvero le cellule somatiche e la carica microbica del latte, non hanno mostrato variazioni per effetto dei fattori considerati.

Riguardo all'effetto della dieta, invece, si rileva come l'integrazione energetica con orzo abbia ridotto il tenore lipidico e l'urea del latte. La riduzione del grasso del latte è attribuibile al minore rapporto foraggio/concentrato delle diete con orzo, quindi al minore apporto di cellulosa che, fermentata nel rumine, dà origine all'acido acetico, precursore degli acidi grassi a corta e media catena del latte sintetizzati nella mammella. La riduzione dell'urea nel latte è certamente una conseguenza del minore e più equilibrato rapporto tra proteina ed energia nelle diete con orzo (tabella 2) che nel rumine ha favorito l'utilizzazione dell'azoto per la crescita microbica (Harmeyer e Martens, 1980).

Inoltre, il foraggio fresco di sulla, indipendentemente dall'integrazione con orzo, ha determinato un aumento delle percentuali di proteina e caseina nel latte, possibilmente favorito dalla maggiore ingestione di tannini condensati (tabella 2). Questi metaboliti secondari sono presenti nella sulla in quantità moderata (<6% sulla sostanza secca) che, in aree mediterranee, oscilla tra lo 0,8% ed il 5% della sostanza secca dell'intera pianta, in relazione all'ambiente, al tipo genetico e allo stadio di sviluppo (Amato *et al.*, 2005). I tannini condensati, unitamente alla loro azione antielmintica (Hoste *et al.*, 2006), riducono la degradabilità proteica nel rumine e rendono disponibile, di conseguenza, una maggiore quantità di amminoacidi per l'assorbimento nel tratto intestinale (Min *et al.*, 2003; Niezen *et al.*, 2002; Waghorn e McNabb, 2003), contribuendo così a migliorare l'efficienza di utilizzazione della proteina alimentare per la sintesi di caseina nel latte.

Si rileva, tuttavia, come la maggiore produzione giornaliera di caseina (45,3 g/d; $P < 0,01$) (tabella 4), si sia ottenuta con la dieta costituita da foraggio di sulla e orzo, certamente perché associata alla massima produzione di latte. Anche l'efficienza nell'utilizzazione della proteina alimentare

ai fini della sintesi di caseina nel latte, espressa in g di caseina per kg sia di proteina grezza sia di proteina digeribile ingerita, ha risentito della dieta ma non del genotipo: essa ha mostrato un andamento crescente in funzione della riduzione dell'ingestione proteica ma nel contempo è risultata favorevolmente influenzata dall'integrazione energetica con orzo che, rendendo sincrone le disponibilità di energia e azoto in sede ruminale, ha favorito la conversione dell'azoto in proteine microbiche, da cui deriva la già citata riduzione dell'urea nel latte e, soprattutto, si originano gli amminoacidi per la sintesi di caseina nella mammella.

Sempre con riferimento alla qualità del latte, l'effetto del genotipo per l' α_{S1} -CN non ha mai raggiunto la significatività statistica. Il genotipo non ha significativamente influenzato neanche il tenore caseinico del latte, sebbene questo sia risultato lievemente superiore con il genotipo forte. Un'ampia letteratura (Avondo *et al.*, 2009b; Bonanno *et al.*, 2007c; Bonanno *et al.*, 2009; De la Torre Adarve *et al.*, 2009; Pagano *et al.*, 2010a; Valenti *et al.*, 2011) riporta nel latte delle capre con genotipo forte (AA) un contenuto percentuale di caseina marcatamente superiore rispetto al latte delle capre con genotipo debole (FF), mentre le capre con genotipo eterozigote (AF) mostrano un livello di caseina intermedio (Bonanno *et al.*, 2007c; Pagano *et al.*, 2010a), ma sempre significativamente diverso da quello dei genotipi forte e debole.

In questa prova, tuttavia, la caseina ha mostrato una tendenza alla significatività dell'interazione tra genotipo e dieta. A tal proposito, la tabella 4 e la figura 6 mettono in risalto come la dieta non abbia interferito con il livello caseinico del latte delle capre con alleli forti, che si è mantenuta ad un livello pressoché costante. Di contro, il genotipo eterozigote ha subito l'effetto degli apporti nutrizionali; infatti, il contenuto in caseina si è contratto fortemente con la dieta a base di fieno, mentre le differenze con il genotipo forte sono venute meno con la dieta a base di sula e orzo caratterizzata da un maggior livello nutrizionale.

4.4.4. Profilo caseinico del latte

L'analisi delle componenti caseiniche, quali k-CN, α_{S2} -CN, α_{S1} -CN e β -CN (tabella 5), ha evidenziato come il latte delle capre con genotipo forte (AA) per l' α_{S1} -CN, pur mostrando un livello di caseine totali analogo a quello delle capre eterozigoti (AF), è risultato maggiormente dotato in α_{S1} -CN, indipendentemente dal tipo di dieta ricevuta. Le figure 2 e 3 riportano i cromatogrammi ottenuti dall'analisi HPLC in fase inversa di campioni di latte contenenti, rispettivamente, un'alta (alleli AA) e una bassa (alleli AF) espressione delle varianti di α_{S1} -CN.

L'effetto del genotipo è emerso anche per l' α_{S2} -CN per la quale, tuttavia, il tenore medio più elevato è stato rilevato sul latte delle capre portatrici del genotipo intermedio. La k-CN non è stata influenzata né dal genotipo né dalla dieta, mentre la β -CN, che è la frazione caseinica maggiormente rappresentata, sebbene sia risultata leggermente più elevata nel genotipo eterozigote, è stata condizionata significativamente solo dal fattore dieta. La β -CN, infatti, ha mostrato livelli più elevati con le diete più proteiche a base di foraggio fresco di sulla che, quindi, ne hanno favorito la sintesi.

Analizzando il profilo caseinico del latte sulla base della produzione totale delle diverse frazioni (tabella 5), l'effetto del genotipo emerge ancora per l' α_{S2} -CN e l' α_{S1} -CN, rispettivamente minore e maggiore per il genotipo forte rispetto all'intermedio. Inoltre, tutte le frazioni caseiniche, ad eccezione dell' α_{S2} -CN, hanno subito l'effetto della dieta, indipendentemente dal genotipo; la loro produzione, infatti, è stata favorita dalla dieta più energetica e bilanciata a base di sulla e orzo.

Gli unici lavori esistenti in letteratura riguardanti l'effetto della dieta sul profilo caseinico del latte di capra (De la Torre Adarve *et al.*, 2009; Valenti *et al.*, 2011), mettono a confronto soggetti con genotipo forte e debole per l' α_{S1} -CN. In linea con i risultati di questa prova, De la Torre Adarve *et al.* (2009) hanno rilevato sulle capre con genotipo forte una maggiore incidenza di α_{S1} -CN nel latte rispetto alle capre con genotipo debole, indipendentemente dall'apporto proteico della dieta; al contrario, tali autori hanno osservato per il genotipo forte un analogo aumento del tenore in α_{S2} -CN e un innalzamento della produzione totale di α_{S1} -CN e α_{S2} -CN solo nel latte del genotipo debole quando alimentate con una dieta più proteica. Valenti *et al.* (2011), in accordo con quanto emerso in questa prova, hanno osservato un aumento dell' α_{S1} -CN ed una contestuale diminuzione di α_{S2} -CN e β -CN nel latte del genotipo forte rispetto al debole, circostanza che induce a suggerire che le capre con genotipo associato ad una minore sintesi di α_{S1} -CN siano in grado di compensare tale riduzione con la sintesi delle altre caseine. Inoltre, gli stessi autori (Valenti *et al.*, 2011) hanno pure osservato come solo le capre con genotipo forte per l' α_{S1} -CN rispondano ad una dieta più energetica aumentando sia il tenore di caseina nel latte sia la totale produzione giornaliera di caseina, e che tale aumento sia ascrivibile esclusivamente all' α_{S1} -CN. In questa prova, invece, l'innalzamento del tenore e della produzione di α_{S1} -CN per effetto della somministrazione della dieta più energetica è stato evidente anche nelle capre con genotipo intermedio.

4.4.5. Attitudine alla coagulazione del latte

Nonostante, come già sottolineato, il genotipo per l' α_{S1} -CN non abbia significativamente influenzato il suo tenore caseinico totale, il latte delle capre con gli alleli forti ha tuttavia mostrato un comportamento al Formagraph riconducibile ad un maggiore livello di caseina (Bencini *et al.* 2002), dato da un più lungo tempo di coagulazione e dalla maggiore consistenza della cagliata (tabella 6); poiché nel latte delle capre con genotipo forte si è osservato soltanto l'innalzamento dell' α_{S1} -CN, tali risultati inducono a ritenere come sia proprio l' α_{S1} -CN la componente caseinica maggiormente implicata nelle variazioni dei parametri di coagulazione del latte. È importante notare come, per quanto riguarda l'attitudine alla coagulazione del latte, in precedenti prove (Bonanno *et al.*, 2007c; Bonanno *et al.*, 2009) si sia evidenziato solo una maggiore consistenza della cagliata nel latte del genotipo forte rispetto al genotipo debole, mentre, contrariamente a questa prova, il genotipo intermedio per l' α_{S1} -CN non si diversificava da quello forte.

Indipendentemente dal genotipo, la dieta ha influenzato l'acidità titolabile e il tempo di coagulazione del latte (tabella 6); difatti, la prima è risultata maggiore e l'altro inferiore per il latte delle capre che ricevevano la dieta esclusivamente a base di foraggio fresco di sulla. Tale andamento potrebbe ricondursi a quello del contenuto in urea del latte (tabella 3) il cui innalzamento, indotto dall'eccesso proteico della dieta con sulla, avrebbe provocato un aumento dell'acidità del latte e, di conseguenza, della velocità di coagulazione del latte (Bencini *et al.*, 2002).

4.4.6. Profilo acidico del grasso del latte

La composizione acidica del latte, come si evince dalle tabelle 7, 8 e 9, è risultata fortemente condizionata dal regime alimentare, e solo marginalmente dal polimorfismo al locus CSN1S1, come anche dall'interazione tra i due fattori.

L'effetto del genotipo è stato comunque rinvenuto, a vari livelli di significatività, a carico degli acidi grassi a pari e corta catena (dal C4:0 al C10:0), più elevati nel genotipo forte per l' α_{S1} -CN (tabella 7), così come anche per il C17:0 *anteiso* (tabella 7), lo stearico (C18:0) e l'oleico (C18:1c9) (tabella 8), superiori nel genotipo eterozigote (tabella 8). Il profilo acidico (tabella 9) del grasso del latte delle capre con una maggiore attitudine alla sintesi di α_{S1} -CN è stato caratterizzato, quindi, da una maggiore dotazione in acidi grassi saturi, soprattutto per il contributo di quelli a corta e media catena (Σ C6-C14), e dal minore contenuto in monoinsaturi ed

in acidi grassi a lunga catena ($\Sigma > C18$), soprattutto per il ridotto tenore in acido oleico (C18:1c9). Il latte delle capre con genotipo forte ha mostrato, pertanto, un maggiore rapporto tra acidi grassi saturi e insaturi, ma questo non ha avuto ripercussioni sull'indice aterogenico (Ulbricht e Southgate, 1991) e sull'Health Promoting Index (Chen *et al.*, 2004) che, sebbene in senso opposto, esprimono entrambi il valore salutistico del grasso dietetico (tabella 9).

In letteratura, solo Todaro *et al.* (2010), studiando gli effetti del genotipo per l' α_{S1} -CN sul profilo acidico del latte di capre di razza Maltese, hanno valutato anche soggetti con genotipo eterozigote per un allele debole (AF), rilevando per questi differenze con le capre con genotipo debole, dovute in prevalenza alla maggiore dotazione in acidi grassi a media catena di queste ultime, ma non con quelle con genotipo forte.

In accordo con Todaro *et al.* (2010), in questa prova non si sono riscontrate differenze tra genotipo forte ed eterozigote sia per quanto riguarda il livello di acido rumenico (CLA, C18:2c9t11), sebbene questo sia risultato, come pure l'acido vaccenico (C18:1t11), più elevato nel genotipo eterozigote, sia per i rapporti tra l'acido insaturo e il saturo di pari lunghezza (tabella 9), assunti quali indicatori dell'attività di desaturazione degli acidi grassi nella ghiandola mammaria ad opera dell'enzima delta-9 desaturasi. Chilliard *et al.* (2006) hanno, comunque, rilevato un maggiore tenore di acido rumenico e, in accordo con Valenti *et al.* (2010), anche più elevati rapporti di desaturazione degli acidi grassi nel latte del genotipo debole rispetto al forte.

Quando le capre portatrici degli alleli forti sono state confrontate con quelle omozigoti per gli alleli deboli, l'effetto del genotipo per l' α_{S1} -CN è stato più pronunciato rispetto a quanto rilevato in questa prova; le differenze emerse hanno riguardato maggiormente gli acidi grassi saturi a corta e parzialmente quelli a media catena (C4-C12), più elevati con il genotipo con alleli forti (Chilliard *et al.*, 2006; De la Torre Adarve *et al.*, 2009; Schmidely *et al.* 2002; Todaro *et al.*, 2010; Valenti *et al.*, 2009), evidenziando come la proporzione di acidi grassi a corta e media catena sia normalmente più elevata negli animali con una alta capacità di sintesi dell' α_{S1} -CN, in analogia a quanto emerso in questa prova.

Per quanto riguarda gli acidi ramificati, solo Valenti *et al.* (2009) hanno rilevato un maggiore tenore del C15:0 *anteiso* con il genotipo forte rispetto al debole, mentre in letteratura non viene riportata nessun'altra differenza riconducibile all'innalzamento del C17:0 *anteiso* con il genotipo debole emerso in questa prova.

Inoltre, similmente a questa prova, Chilliard *et al.* (2006) e de la Torre Adarve *et al.* (2009) hanno rilevato un minore tenore in acido oleico nel latte delle capre con genotipo forte, che

indicherebbe per queste, rispetto a quelle con genotipo eterozigote e debole, un minore ricorso alle riserve adipose, come suggeriscono Schmidely *et al.* (2002); del resto, Valenti *et al.* (2010) hanno potuto osservare come le capre con genotipo forte per l' α_{S1} -CN non mostrino l'innalzamento del contenuto in acido oleico che invece avviene nelle capre con genotipo debole quando alimentate con la dieta meno energetica, circostanza che avvalorava la loro maggiore efficienza di utilizzazione energetica.

In questa prova, l'interazione tra genotipo per l' α_{S1} -CN e la dieta è emersa, per altro a livello di tendenza, soltanto per l'insieme degli acidi grassi a corta e media catena ($\Sigma C4-C14$) (tabella 9). Questi, infatti, sono aumentati quando le capre con genotipo associato ad una bassa capacità di sintesi di α_{S1} -CN hanno ricevuto l'integrazione con concentrato energetico. Analogamente, Valenti *et al.* (2010) hanno rilevato una maggiore sintesi di acidi grassi a corta e media catena nel latte delle capre con genotipo debole se alimentate con la dieta più energetica.

Nel complesso, da questa, come dalle altre indagini citate, emerge con evidenza come esista un debole legame tra il polimorfismo genetico dell' α_{S1} -CN e le variazioni della composizione in acidi grassi. L'assenza di un più spiccato effetto del genotipo può essere giustificata, secondo l'opinione di Leroux (2004), dal fatto che il contenuto in grasso del latte non sembra dipendere da differenze nell'espressione di enzimi coinvolti nella lipogenesi. Tuttavia, altri enzimi sembrano coinvolti nella sintesi *de novo* degli acidi grassi a corta e media catena nella mammella. A tal proposito, Ollier *et al.* (2008) ipotizzano che le varianti deboli al locus dell' α_{S1} -CN possano interferire negativamente sull'espressione di geni che codificano per l'enzima che catalizza la sintesi *de novo* degli acidi grassi a corta e media catena a livello mammario.

La composizione ed il livello nutrizionale della dieta ha, invece, fortemente condizionato il profilo acidico del latte. Difatti, sia la sulla verde sia il fieno integrati con il concentrato energetico hanno contribuito ad innalzare i livelli degli acidi grassi saturi a corta e media catena (dal C10:0 al C14:0, e il C16:0, tabella 7), la cui somma ($\Sigma C6-C14$) è riportata in tabella 9.

La dieta con sulla e orzo ha mostrato il più alto tenore in acido linoleico (C18:2n6) (tabella 8), al quale hanno certamente contribuito gli apporti provenienti da entrambi gli alimenti.

Di contro, la dieta esclusivamente foraggera a base di sulla verde ha contribuito ad innalzare nel latte il contenuto di gran parte degli acidi grassi a catena dispari e ramificata (C14:0 *iso*, C15:0 *iso*, C15 *anteiso*, C15:0, C17:0 *anteiso* e C17:0, tabella 7), raggruppati sotto l'acronimo OBCFA in tabella 9. Gli acidi grassi ramificati, cui è riconosciuta una certa attività anticancerogena, derivano in massima parte dalle biosintesi dei batteri ruminali e, pertanto, la loro presenza è

ritenuta un indicatore delle fermentazioni microbiche nel rumine ed è favorita da una maggiore incidenza della componente foraggera nella dieta (Vlaemink *et al.*, 2006).

La dieta a base esclusiva di sulla ha anche determinato un aumento nel latte di molti acidi a 18 atomi di carbonio (tabella 8), quali lo stearico (C18:0), il vaccenico (C18:1t11), l'oleico (C18:1c9) ed il rumenico (CLA, C18:2c9t11). L'incidenza della sulla nella dieta ha fortemente condizionato anche il contenuto in acido α -linolenico (C18:3n3) che, più basso con la dieta con fieno, è aumentato passando a quella con sulla e orzo e, quindi, alla dieta con solo sulla (tabella 8). Tale andamento si è riscontrato anche per il totale degli acidi polinsaturi e degli omega 3 e, quindi, in senso inverso, per il rapporto omega 6/omega 3 (tabella 9). Del resto, gli acidi grassi del foraggio di sulla sono costituiti per oltre il 70% da acidi polinsaturi, rappresentati per circa il 60% da acido α -linolenico (C18:3n3) e per il 10% dal linoleico (C18:2n6) (Cabiddu *et al.*, 2005); si comprende quindi, come l'alimentazione con foraggio verde di sulla possa aver favorito l'aumento degli acidi grassi polinsaturi nel latte. Tuttavia, è dimostrato come anche l'assunzione dei tannini condensati della sulla possa avere un ruolo determinante nell'aumento nel latte degli acidi grassi polinsaturi; i tannini condensati, infatti, agirebbero a livello ruminale inibendo l'attività di bio-idrogenazione da parte della flora microbica, come riportato da Cabiddu *et al.* (2009). In questo contesto, l'acido rumenico e l'acido vaccenico rappresentano l'uno il primo e l'altro l'ultimo dei prodotti intermedi che si formano durante il processo di saturazione degli acidi linoleico e α -linolenico ad acido stearico (Antongiovanni *et al.*, 2003; Chilliard *et al.*, 2007) e che, pertanto, aumentano per effetto dell'azione inibente dei tannini condensati della sulla. L'acido rumenico è il più abbondante degli isomeri dell'acido linoleico coniugato o CLA; si tratta di molecole con proprietà benefiche sulla salute umana che, data l'azione citotossica esercitata nei confronti di diverse linee di cellule tumorali, si esplicano principalmente prevenendo l'insorgenza di tumori (Parodi, 1999; Banni *et al.*, 2002). L'acido rumenico deriva, oltre che dalla bio-idrogenazione ruminale degli acidi linoleico e α -linolenico, anche dalla desaturazione a livello mammario dell'acido vaccenico (C18:1t11) (Antongiovanni *et al.*, 2003). Tuttavia, il minore rapporto tra acido rumenico e vaccenico (RA/VA) (tabella 9), registrato con entrambe le diete a base di sulla rispetto a quella con fieno, indicherebbe una minore efficienza dell'attività dell'enzima delta-9 desaturasi nel tessuto della mammella per la conversione dell'acido vaccenico in rumenico, effetto che probabilmente è dipeso dal più elevato livello di acido vaccenico. Comunque, l'attività di desaturazione degli acidi grassi nella ghiandola

mammaria ad opera dell'enzima delta-9 desaturasi, indicata dai rapporti tra l'acido insaturo e il saturo di pari lunghezza (tabella 9), non sembra sia stata influenzata dalla dieta.

Nel complesso, la somministrazione esclusiva di sulla verde ha migliorato il profilo acidico del grasso del latte, rendendolo più rispondente alle esigenze salutistiche dei consumatori (Bauman *et al.*, 2006b; Chilliard *et al.*, 2007; Dewhurst *et al.*, 2006). La sulla, infatti, ha contribuito ad arricchire il latte in acidi grassi ramificati, CLA (acido rumenico), acidi monoinsaturi, polinsaturi e omega 3, riducendo così il rapporto tra saturi e insaturi e quello tra omega 6 e omega 3, e migliorando l'indice aterogenico e l'Health Promoting Index (tabella 9).

4.5. Conclusioni

In questo studio, sono state confrontate capre il cui genotipo è associato alla sintesi di un alto (AA) o medio (AF) livello di α_{S1} -CN in base al loro comportamento alimentare e alle risposte metabolico-ormonali e produttive conseguenti alla somministrazione di diete nutrizionalmente diverse. Dai risultati ottenuti è possibile affermare come l'effetto della dieta sia più pronunciato di quello dei genotipi considerati, così come anche emerge in letteratura dai confronti tra genotipo forte e debole per l' α_{S1} -CN.

Indipendentemente dal genotipo e dall'integrazione con concentrato, le diete a base di foraggio fresco di sulla, rispetto a quella con fieno, hanno favorito l'aumento dell'ingestione di sostanza secca e di proteine da parte delle capre, il miglioramento della digeribilità sia della sostanza secca che della proteina, oltre che una maggiore protezione contro lo stress ossidativo; inoltre hanno determinato l'innalzamento del contenuto proteico e caseinico del latte, e della β -CN in particolare, presumibilmente per l'effetto favorevole del loro moderato contenuto in tannini condensati.

La dieta costituita dal solo foraggio verde di sulla, anche per effetto dell'azione dei tannini condensati inibente la bio-idrogenazione ruminale degli acidi grassi, ha consentito di produrre latte di elevate proprietà salutistiche, come indicano i più alti livelli di OBCFA, CLA, acidi monoinsaturi, polinsaturi e omega 3, e i minori rapporti tra acidi saturi e insaturi e tra omega 6 e omega 3, oltre che il miglioramento dell'indice aterogenico e dell'Health Promoting index.

L'integrazione energetica con concentrato sembra favorire lo stress ossidativo, come lascia presumere l'aumento dei ROMs, ma ha anche contribuito ad evitare deficit energetici e, quindi, a limitare la mobilitazione delle riserve corporee adipose; inoltre, ha consentito una più efficiente

utilizzo della proteina alimentare per la sintesi di caseina del latte, ed ha comportato la riduzione del contenuto lipidico e di urea nel latte.

Con la dieta più energetica e bilanciata, a base di sula e orzo, è stato possibile massimizzare l'ingestione energetica, la digeribilità della sostanza secca e la produzione di latte.

Riguardo all'effetto del genotipo, le capre con alleli forti ai loci dell' α_{S1} -CN hanno mostrato, rispetto a quelle eterozigoti, una maggiore digeribilità proteica, come anche la tendenza ad un più elevato livello plasmatico in fT3, che indica una loro maggiore assunzione energetica e proteica necessaria per sostenere i più elevati fabbisogni produttivi. Inoltre, il latte da esse prodotto, pur non mostrando livelli di caseina totale superiore, è risultato maggiormente dotato in α_{S1} -CN e meno nelle altre frazioni caseiniche rispetto a quello del genotipo associato ad una minore sintesi di α_{S1} -CN, circostanza che suggerisce per queste ultime una sintesi compensativa delle altre caseine. Il maggiore tenore in α_{S1} -CN nel latte del genotipo forte sembra responsabile della migliore attitudine alla coagulazione, dovuta al più lungo tempo di coagulazione "r" e alla maggiore consistenza della cagliata a₃₀. Le capre con genotipo forte hanno anche evidenziato una maggiore attitudine dei tessuti mammari alla sintesi *de novo* degli acidi grassi a corta e media catena, come anche la minore necessità di ricorrere alle riserve adipose, indicato dal minore tenore in acido oleico, a conferma anche della loro maggiore efficienza di utilizzazione energetica.

Il genotipo ha, quindi, significativamente interagito con il livello nutrizionale della dieta per la digeribilità della sostanza secca, il livello dell'ormone fT3 e la produzione di latte, e tendenzialmente per la digeribilità della proteina, la caseina del latte e l'insieme degli acidi grassi a corta e media catena.

Difatti, le capre con genotipo forte hanno mostrato un innalzamento della digeribilità e della produzione di latte con la somministrazione della dieta più energetica a base di sula e orzo, caratterizzata da un più equilibrato rapporto tra proteina ed energia e da un minore apporto di fibra, e una migliore digeribilità della proteina quando alimentate con le diete più proteiche a base di sula fresca, mentre tali miglioramenti sono stati meno pronunciati nelle capre con genotipo eterozigote. La riduzione della caseina totale e dell'ormone fT3, che si è evidenziata nelle capre eterozigoti quando alimentate con la dieta a base di fieno, non è stata osservata nelle capre con genotipo forte. Inoltre, le capre eterozigoti hanno mostrato una maggiore sintesi di acidi grassi a corta e media catena nel latte quando hanno ricevuto l'integrazione del concentrato energetico.

Questi risultati confermano come le capre con genotipo forte per l' α_{S1} -CN, rispetto alle capre con genotipo associato a una minore sintesi di α_{S1} -CN, rispondano meglio in termini di efficienza di utilizzazione alimentare e, di conseguenza, di produttività, quando dispongono di apporti nutrizionali più energetici e bilanciati nel rapporto tra proteina ed energia, e dimostrano che tale effetto sia evidente già a livello digestivo.

In definitiva, da quanto è emerso, per ottimizzare le produzioni lattiero casearie delle capre in allevamento, sia in termini quantitativi che qualitativi, occorre raccomandare adeguati apporti alimentari di natura energetica e proteica ai genotipi più produttivi. Di contro, in sistemi estensivi di allevamento, basati sull'esclusivo sfruttamento delle risorse foraggere del pascolo, il diverso genotipo delle capre sarà meno determinante ai fini dell'efficienza alimentare e della produttività.

Tabella 1. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sul peso vivo ed il BCS.

Genotipo (G)	AA AF					AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)		
			SV SVO FMO	SV SVO FMO	SV SVO FMO	SV SVO FMO	G D G*D								
Peso vivo finale, kg	39,5	38,1	38,8 38,9 38,6	39,7 39,5 39,2	37,9 38,2 38,0	1,51	ns	ns	ns						
Variazione di peso vivo, kg	1,08	0,75	1,17 0,86 0,71	1,63 0,94 0,68	0,72 0,78 0,74	0,62	ns	ns	ns						
BCS finale (3)	2,75	2,81	2,79 2,79 2,75	2,79 2,71 2,75	2,79 2,87 2,75	0,092	ns	ns	ns						
Variazione di BCS (3)	0,042	0,000	0,021 0,042 0,000	0,083 0,000 0,043	-0,042 0,083 -0,042	0,052	ns	ns	ns						

(1) SEM= errore standard della media

(2) ns = non significativo

(3) BCS = body condition score

Tabella 2. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sull'ingestione alimentare.

Genotipo (G)	AA AF		AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)					
	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO		FMO	G	D	G*D		
Sostanza secca (SS), g/d	1746	1776	1820 a	1807 a	1655 b	1769	1776	1692	1872	1837	1618	86,8	ns	**	ns
Proteina grezza (PG), g/d	272	270	321 a	290 b	203 c	322	286	209	320	293	197	15,3	ns	***	ns
NDF, g/d	535	568	632 a	483 c	539 b	592	463	550	673	503	527	37,4	ns	***	ns
Tannini condensati, g/d	29,1	28,5	47,2 a	35,6 b	3,50 c	47,7	35,7	3,70	46,6	35,4	3,31	1,64	ns	***	ns
Energia netta (EN _L), Mcal/d	2,60	2,58	2,40 b	3,03 a	2,34 b	2,36	3,05	2,37	2,44	3,01	2,31	0,088	ns	***	ns
PG/EN _L , g/Mcal	105,5	103,9	133,5 a	94,9 b	85,6 c	135,9	93,6	87,1	131,1	96,2	84,2	3,30	ns	***	ns
PG/NDF	0,54	0,50	0,54 b	0,63 a	0,39 c	0,58	0,65	0,39	0,50	0,62	0,39	0,020	ns	***	ns
Digeribilità SS, %	67,6	66,6	68,1 b	74,4 a	58,9 c	69,1 c	76,4 a	57,4 d	67,1 c	72,3 b	60,5 d	1,15	ns	***	**
Digeribilità PG, %	62,1	58,7	66,8 a	66,9 a	47,6 b	68,7 ab	69,9 a	47,7 d	64,9 bc	63,8 c	47,5 d	1,61	*	***	+

(1) SEM= errore standard della media

(2) + P \leq 0.10; * P \leq 0.05; ** P \leq 0.01; *** P \leq 0.001; ns = non significativo; a, b, c, d: P \leq 0.05

Tabella 3. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sui parametri metabolici, ormonali e indicatori dello stress ossidativo.

Genotipo (G)	AA AF		AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)					
	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO		FMO	G	D	G*D		
NEFA, ln+1 mmol/l	0,23	0,23	0,32 a	0,18 b	0,20 b	0,31	0,21	0,17	0,32	0,16	0,23	0,045	ns	**	ns
Glucosio, mmol/l	51,4	50,3	50,3	51,7	50,7	51,0	52,0	51,2	49,5	51,3	50,2	1,57	ns	ns	ns
Insulina, log ng/l	2,27	2,32	2,29	2,34	2,26	2,25	2,32	2,23	2,32	2,36	2,30	0,056	ns	ns	ns
fT3, ln+1 pg/ml	1,51	1,45	1,43	1,52	1,48	1,42 ab	1,52 ab	1,58 a	1,45 ab	1,52 ab	1,37 b	0,051	+	ns	*
fT4, ln+10 ng/dl	2,39	2,40	2,39	2,39	2,39	2,39	2,39	2,39	2,39	2,41	2,40	0,006	*	ns	ns
ROMs, ln U.Carr	4,23	4,06	3,90 b	4,23 a	4,30 a	3,86	4,50	4,33	3,95	3,97	4,28	0,28	ns	+	ns
BAP, ln μ mol/l	7,88	7,91	8,01 a	7,99 a	7,68 b	8,09	8,00	7,55	7,92	7,99	7,81	0,13	ns	*	ns
α -toferolo, ln μ mol/l	2,35	2,44	2,53	2,34	2,31	2,55	2,19	2,29	2,51	2,50	2,32	0,16	ns	ns	ns

(1) SEM= errore standard della media

(2) + $P \leq 0.10$; * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; ns = non significativo; a, b, c, d: $P \leq 0.05$

Tabella 4. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sulla produzione e sui principali componenti del latte.

Genotipo (G)	AA AF		AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)					
	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO		FMO	G	D	G*D		
Latte, g/d	1487	1473	1353 c	1664 a	1423 b	1356 cd	1720 a	1384 cd	1348 d	1606 b	1465 c	44,3	ns	***	**
Latte corretto (3), g/d	1439	1430	1359 b	1599 a	1344 b	1362 c	1640 a	1315 c	1351 c	1557 b	1382 c	102,1	ns	***	*
Lattosio, %	4,45	4,50	4,50	4,46	4,45	4,48	4,44	4,43	4,53	4,48	4,47	0,068	ns	ns	ns
Grasso, %	3,17	3,31	3,59 a	3,17 b	2,95 c	3,52	3,06	2,92	3,66	3,28	2,99	0,21	ns	***	ns
Proteina (TN*6.38), %	3,49	3,47	3,54 a	3,52 a	3,38 b	3,55 a	3,49 a	3,43 a	3,52 a	3,56 a	3,33 b	0,10	ns	***	+
Caseina, %	2,74	2,61	2,69 a	2,73a	2,61 b	2,76 a	2,76 a	2,70 a	2,62 a	2,70 a	2,51 b	0,092	ns	***	+
Caseina totale, g/d	40,2	37,8	35,6 b	45,3 a	36,1 b	37,2	46,8	36,6	33,9	43,8	35,6	3,00	ns	***	ns
Caseina/PG ingerita, g/kg	156	157	115 c	164 b	191 a	117	168	184	113	161	198	12,7	ns	***	ns
Caseina/PG digeribile ingerita, g/kg	267	281	172 c	242 b	409 a	172 c	237 b	393 a	173 c	247 b	424 a	20,6	ns	***	ns
Sieroproteine, %	0,54	0,59	0,60 a	0,55 b	0,53b	0,58	0,52	0,51	0,62	0,59	0,55	0,024	ns	**	ns
NPN, %	0,038	0,040	0,039	0,038	0,039	0,039	0,038	0,039	0,040	0,039	0,039	0,001	ns	ns	ns
Urea, mg/dl	33,8	31,8	35,4 a	32,1 b	30,9 b	35,8	33,4	32,3	35,0	30,9c	29,5	2,19	ns	***	ns
Log ₁₀ CCS, n/ml	5,13	5,42	5,27	5,28	5,27	5,15	5,09	5,14	5,39	5,46	5,41	0,15	ns	ns	ns
Log ₁₀ CMT, ufc/ml	5,73	5,84	5,71	5,90	5,76	5,71	5,78	5,71	5,70	6,01	5,81	0,098	ns	ns	ns

(1) SEM= errore standard della media

(2) + P≤0.10; * P≤0.05; ** P≤0.01; *** P≤0.001; ns = non significativo; a, b, c, d: P≤0.05

(3) Latte corretto al 3,5% di grasso = Latte (g)*(0,634+0,1046*grasso %) (Pulina *et al.*, 1991)

Tabella 5. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{s1} -CN e della dieta sulla composizione e sulla produzione di caseine nel latte.

Genotipo (G)	AA AF					AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)		
			SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO		G	D	G*D
k-CN, %	0,69	0,70	0,68	0,73	0,69	0,70	0,67	0,71	0,66	0,69	0,76	0,043	ns	ns	ns
α_{s2} -CN, %	0,10	0,16	0,14	0,14	0,12	0,091	0,088	0,13	0,20	0,14	0,15	0,031	*	ns	ns
α_{s1} -CN, %	0,55	0,34	0,46	0,45	0,42	0,58	0,55	0,51	0,34	0,36	0,33	0,054	**	ns	ns
β -CN, %	1,21	1,33	1,33 a	1,28 a	1,21 b	1,31	1,18	1,15	1,35	1,37	1,27	0,086	ns	**	ns
Caseina totale, %	2,56	2,54	2,62	2,52	2,50	2,69	2,49	2,50	2,55	2,56	2,50	0,089	ns	ns	ns
k-CN, g/d	9,96	10,1	9,22 b	11,2 a	9,62 b	9,76	11,2	8,91	8,68	11,3	10,3	1,24	ns	*	ns
α_{s2} -CN, g/d	1,49	2,30	1,88	1,91	1,89	1,23	1,59	1,64	2,53	2,24	2,13	0,43	*	ns	ns
α_{s1} -CN, g/d	7,96	4,83	6,38 ab	7,43 a	5,38 b	8,30	9,08	6,50	4,46	5,77	4,26	1,27	*	*	ns
β -CN, g/d	17,4	18,9	18,0 b	20,9 a	15,6 b	18,5	19,3	14,5	17,5	22,5	16,8	2,20	ns	**	ns
Caseina totale, g/d	36,8	36,1	35,5 b	41,5 a	32,5 b	37,8	41,2	31,5	33,1	41,7	33,5	4,12	ns	**	ns

(1) SEM= errore standard della media

(2) * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; ns = non significativo; a, b: $P \leq 0.05$

Tabella 6. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sull'attitudine alla coagulazione del latte.

Genotipo (G)	AA AF					AA			AF			SEM (1)	Significatività (2)		
			SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO		G	D	G*D
pH	6,66	6,64	6,63	6,65	6,65	6,64	6,67	6,65	6,63	6,63	6,65	0,018	ns	ns	ns
Acidità titolabile, °SH/50 ml	2,59	2,82	2,81 a	2,67 b	2,62 b	2,81	2,56	2,66	2,81 ac	2,79	2,58	0,11	ns	**	ns
r, min	15,2	13,9	13,8 b	15,0 a	14,9 a	14,6	15,8	15,3	13,1	14,2	14,5	0,55	*	*	ns
k ₂₀ , min	2,79	2,63	2,67	2,82	2,65	2,82	2,94	2,62	2,53	2,70	2,67	0,33	ns	ns	ns
a ₃₀ , mm	35,9	29,0	32,2	34,2	30,9	37,3	37,5	32,8	27,0	31,0	29,1	2,09	***	ns	ns

(1) SEM= errore standard della media

(2) * P≤0.05; ** P≤0.01; *** P≤0.001; ns = non significativo; a, b, c, d: P≤0.05

Tabella 7. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sulla composizione del latte in acidi grassi a corta e media catena (g/100 g di acidi grassi totali).

Genotipo (G)	AA AF					AA			AF			SEM (1)	Significatività		
	Dieta (D)		SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO		G	D	G*D
C4:0	1,01	0,83	0,97	0,84	0,95	1,15	0,93	0,96	0,80	0,75	0,94	0,13	+	ns	ns
C6:0	2,22	1,74	2,01	2,05	1,89	2,48	2,34	1,85	1,54	1,75	1,94	0,32	+	ns	ns
C8:0	3,02	2,10	2,52	2,89	2,28	3,31	3,51	2,24	1,73	2,26	2,32	0,44	*	ns	ns
C9:0	0,28	0,33	0,36	0,32	0,25	0,39	0,22	0,24	0,32	0,42	0,25	0,073	ns	ns	ns
C10:0	12,0	10,2	9,77 b	12,5 a	11,1 ab	11,3	13,7	11,0	8,25	11,3	11,1	0,83	*	**	ns
C11:0	0,47	0,42	0,37 b	0,48 ab	0,49 a	0,42	0,49	0,50	0,33	0,46	0,48	0,052	ns	+	ns
C12:0	6,09	5,55	4,45 b	6,78 a	6,24 a	4,98	6,85	6,45	3,92	6,71	6,02	0,69	ns	**	ns
C13:0	0,23	0,26	0,18 b	0,26 a	0,30 a	0,18	0,23	0,27	0,17	0,30	0,32	0,033	ns	**	ns
C14:0 <i>iso</i>	0,14	0,15	0,18 a	0,13 b	0,13 b	0,20	0,10	0,12	0,17	0,16	0,14	0,026	ns	*	ns
C14:0	11,3	11,6	9,14 b	12,3 a	12,9 a	9,25	12,0	12,5	9,02	12,5	13,3	0,63	ns	***	ns
C15:0 <i>iso</i>	0,21	0,21	0,27 a	0,16 c	0,21 b	0,26	0,17	0,20	0,27	0,15	0,22	0,022	ns	***	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0,36	0,40	0,46 a	0,32 b	0,36 b	0,44	0,28	0,34	0,48	0,35	0,38	0,043	ns	**	ns
C14:1c9	0,14	0,19	0,10 b	0,18 a	0,21 a	0,09	0,15	0,20	0,12	0,22	0,23	0,033	ns	*	ns
C15:0	1,08	1,22	1,59 a	0,86 b	1,00 b	1,42	0,80	1,03	1,77	0,92	0,97	0,13	ns	***	ns
C16:0 <i>iso</i>	0,26	0,28	0,28	0,28	0,25	0,28	0,29	0,23	0,29	0,27	0,28	0,032	ns	ns	ns
C16:0	27,7	27,5	23,3 b	28,4 a	31,1 a	23,1	28,0	32,0	23,6	28,8	30,2	1,46	ns	***	ns
C17:0 <i>iso</i>	0,31	0,35	0,36 a	0,26 b	0,38 a	0,33	0,26	0,35	0,38	0,26	0,41	0,033	ns	**	ns
C17:0 <i>anteiso</i>	0,24	0,28	0,37 a	0,21 b	0,20 b	0,33	0,20	0,19	0,41	0,23	0,21	0,027	*	***	ns
C16:1c9	0,49	0,57	0,47 b	0,50 ab	0,62 a	0,45	0,45	0,58	0,48	0,56	0,66	0,065	ns	+	ns
C17:0	0,89	0,92	1,17 a	0,78 b	0,77 b	1,08	0,75	0,85	1,27	0,82	0,68	0,073	ns	***	ns
C17:1	0,22	0,25	0,30 a	0,18 b	0,22 b	0,27	0,17	0,22	0,32	0,19	0,23	0,022	ns	***	ns

(1) SEM= errore standard della media; (2) + $P \leq 0.10$; * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; ns = non significativo; a, b, c: $P \leq 0.05$

Tabella 8. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sulla composizione del latte in acidi grassi a lunga catena (g/100 g di acidi grassi totali).

Genotipo (G)	AA AF					AA			AF			SEM (1)	Significatività		
			SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO		G	D	G*D
C18:0	8,39	9,36	11,2 a	8,18 b	7,23 b	10,2	7,96	7,00	12,2	8,39	7,46	0,64	+	***	ns
C18:1t6t9	0,25	0,27	0,32 a	0,24 b	0,22 b	0,32	0,25	0,18	0,32	0,24	0,26	0,028	ns	**	ns
C18:1t10	0,19	0,19	0,19 ab	0,21 a	0,17 b	0,20	0,24	0,12	0,18	0,19	0,21	0,021	ns	+	ns
C18:1t11 (VA)	0,77	0,91	1,44 a	0,64 b	0,43 b	1,23	0,62	0,45	1,65	0,66	0,42	0,15	ns	***	ns
C18:1c6	0,58	0,61	0,82 a	0,63 b	0,33 c	0,76	0,65	0,34	0,88	0,61	0,33	0,072	ns	***	ns
C18:1c9	12,5	13,9	15,6 a	11,6 b	12,2 b	14,6	11,2	11,6	16,7	12,0	12,9	0,86	*	***	ns
C18:1c11	0,32	0,33	0,37 a	0,27 b	0,34 ab	0,37	0,27	0,32	0,38	0,26	0,36	0,038	ns	*	ns
C18:1c13c14c15	0,52	0,62	0,79 a	0,54 b	0,37 c	0,66	0,50	0,39	0,92	0,59	0,35	0,073	ns	***	ns
c18:2n6c9c12	1,87	2,05	1,67 b	2,32 a	1,89 b	1,76	2,19	1,65	1,58	2,44	2,14	0,18	ns	**	ns
C18:3n3	1,11	1,10	1,94 a	0,97 b	0,41 c	1,88	0,88	0,56	2,00	1,05	0,26	0,17	ns	***	ns
C18:2c9t11 CLA (RA)	0,35	0,41	0,56 a	0,29 b	0,27 b	0,48	0,28	0,28	0,65	0,30	0,27	0,066	ns	***	ns
Isomeri CLA	0,23	0,23	0,27	0,24	0,18	0,29	0,25	0,16	0,25	0,23	0,20	0,1014	ns	ns	ns
C22:0	0,24	0,23	0,39 a	0,17 b	0,14 b	0,40	0,14	0,16	0,37	0,19	0,13	0,050	ns	***	ns
C20:5n3 (EPA)	0,19	0,16	0,20	0,16	0,17	0,22	0,15	0,19	0,18	0,17	0,14	0,034	ns	ns	ns
C22:6n3 (DHA)	0,11	0,12	0,13	0,11	0,11	0,09	0,13	0,12	0,17	0,09	0,10	0,075	ns	ns	ns
C22:5n3 (DPA)	0,23	0,25	0,25	0,18	0,29	0,20	0,17	0,33	0,29	0,20	0,26	0,10	ns	ns	ns

(1) SEM= errore standard della media

(2) + $P \leq 0.10$; * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; ns = non significativo; a, b, c: $P \leq 0.05$

Tabella 9. Effetti del genotipo delle capre per l' α_{S1} -CN e della dieta sul profilo in acidi grassi del latte (g/100 g di acidi grassi totali).

Genotipo (G)	AA		AF			AA			AF			SEM (1)	Significatività		
	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	SV	SVO	FMO	G	D		G*D		
Non identificati	0,17	0,23	0,19	0,16	0,24	0,18	0,14	0,19	0,19	0,19	0,29	0,051	ns	ns	ns
Saturi	77,2	74,9	70,8 b	78,6 a	78,8 a	72,5	79,7	79,4	69,1	77,5	78,1	1,42	*	***	ns
Monoinsaturi	17,1	18,9	21,8 a	15,8 b	16,5 b	20,3	15,2	15,9	23,3	16,5	17,0	1,08	*	***	ns
Polinsaturi	4,85	5,17	6,35 a	4,78 b	3,91 c	6,25	4,44	3,88	6,46	5,12	3,94	0,37	ns	***	ns
Insaturi	22,0	24,1	28,1 a	20,6 b	20,4 b	26,5	19,6	19,8	29,8	21,6	21,0	1,36	*	***	ns
Saturi/insaturi	3,74	3,28	2,56 b	3,92 a	4,04 a	2,78	4,17	4,25	2,33	3,67	3,83	0,29	*	***	ns
Saturi/polinsaturi	17,7	15,9	11,4 c	17,1 b	21,9 a	12,0	18,5	22,7	10,9	15,6	21,0	1,77	ns	***	ns
Omega 6	2,55	2,72	2,53	2,88	2,50	2,69	2,70	2,27	2,37	3,06	2,72	0,23	ns	ns	ns
Omega 3	1,56	1,61	2,56 a	1,30 b	0,91 b	2,39	1,20	1,10	2,72	1,40	0,71	0,21	ns	***	ns
ω 6/ ω 3	2,53	2,40	1,14 c	2,29 b	3,96 a	1,40	2,28	3,91	0,88	2,31	4,01	0,58	ns	***	ns
OBCFA	5,32	5,79	6,58 a	4,71 b	5,37 b	6,25	4,30	5,42	6,92	5,12	5,32	0,39	ns	***	ns
RA/VA	0,49	0,53	0,40 b	0,47 b	0,65 a	0,39	0,44	0,63	0,42	0,50	0,67	0,065	ns	**	ns
C18:1trans (3)	0,63	0,64	0,73	0,58	0,59	0,75	0,57	0,56	0,71	0,59	0,61	0,076	ns	+	ns
Σ C6-C14	35,8	32,5	29,7 b	37,8 a	35,7 a	32,5 b	39,5 a	35,4 ab	25,5 c	36,1 ab	36,0 ab	1,73	*	***	+
$\Sigma > C18$	28,8	31,2	38,4 a	26,1 b	25,1 b	35,4	25,2	24,9	41,3	27,0	25,3	1,84	+	***	ns
C14:1/C14:0	0,012	0,013	0,009 b	0,014 ab	0,016 a	0,008	0,013	0,016	0,010	0,014	0,015	0,003	ns	+	ns
C16:1/C16:0	0,018	0,021	0,020	0,018	0,020	0,020	0,016	0,019	0,021	0,020	0,022	0,003	ns	ns	ns
C17:1/C17:0	0,25	0,31	0,26	0,23	0,35	0,26	0,22	0,27	0,26	0,23	0,43	0,060	ns	ns	ns
C18:1/C18:0	1,55	1,59	1,45	1,52	1,75	1,51	1,43	1,70	1,39	1,59	1,79	0,15	ns	ns	ns
Indice aterogenico (4)	3,89	3,51	2,32 b	4,19 a	4,59 a	2,49	4,34	4,82	2,14	4,05	4,35	0,36	ns	***	ns
Health promoting index (5)	0,30	0,32	0,44 a	0,25 b	0,24 b	0,41	0,24	0,24	0,47	0,26	0,24	0,026	ns	***	ns

(1) SEM= errore standard della media; (2) + $P \leq 0.10$; * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; ns = non significativo; a, b, c, d: $P \leq 0.05$;

(3) Escluso l'acido vaccenico (C18:1t11); (4) Indice aterogenico = (C12:0 % + 4 x C14:0 % + C16:0 %) / Σ acidi grassi insaturi % (Ulbricht e Southgate, 1991); (5) Health Promoting Index =: Σ acidi grassi insaturi % / (C12:0 % + 4 x C14:0 % + C16:0 %) (Chen *et al.*, 2004).

Figura 1. Cromatogramma ottenuto dall'analisi HPLC in fase inversa di una soluzione mix contenente α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, β -CN e k-CN.

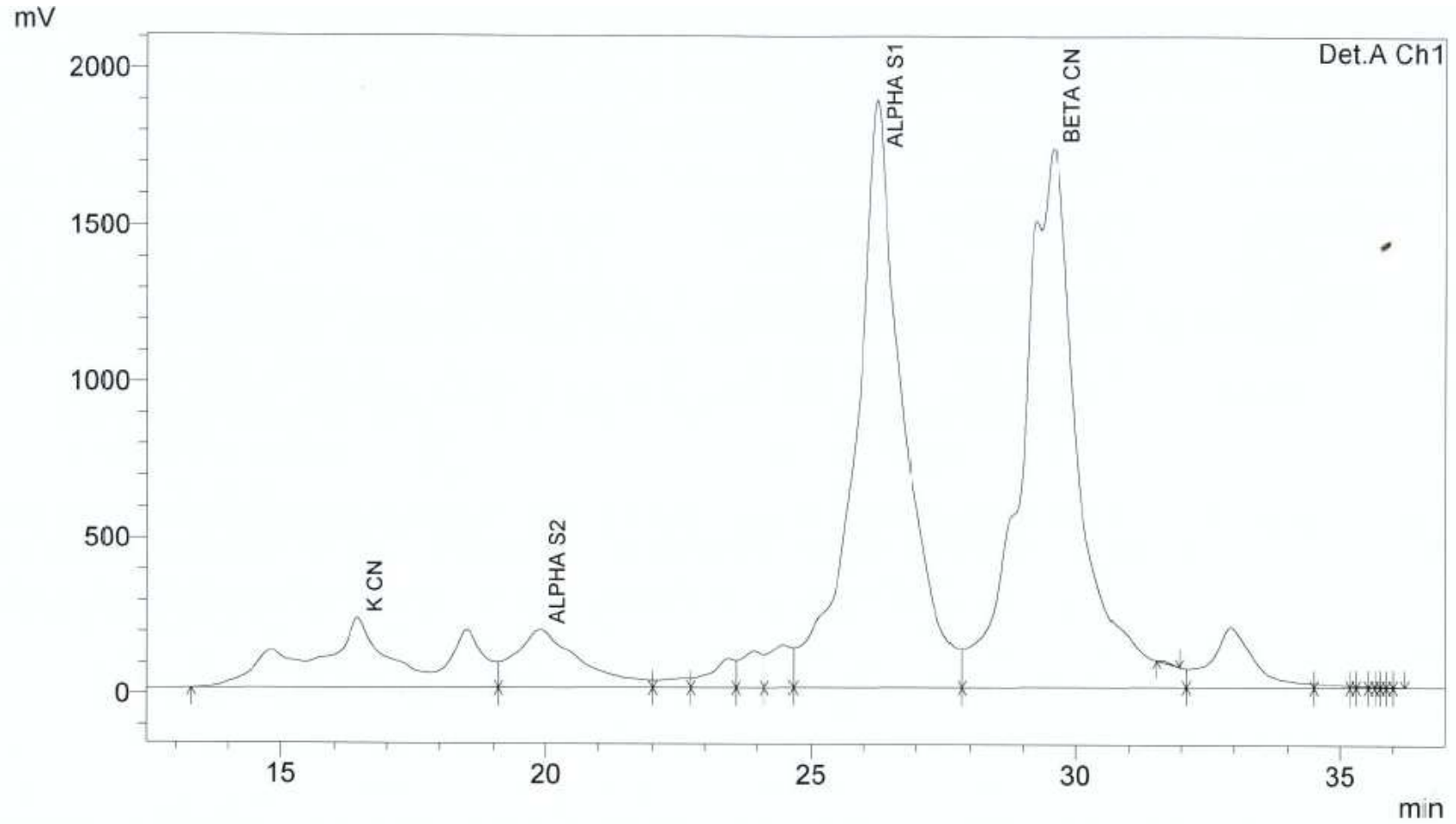


Figura 2. Cromatogramma ottenuto dall'analisi HPLC in fase inversa di un campione di latte contenente un'alta espressione della variante di α_{S1} -CN (alleli AA).

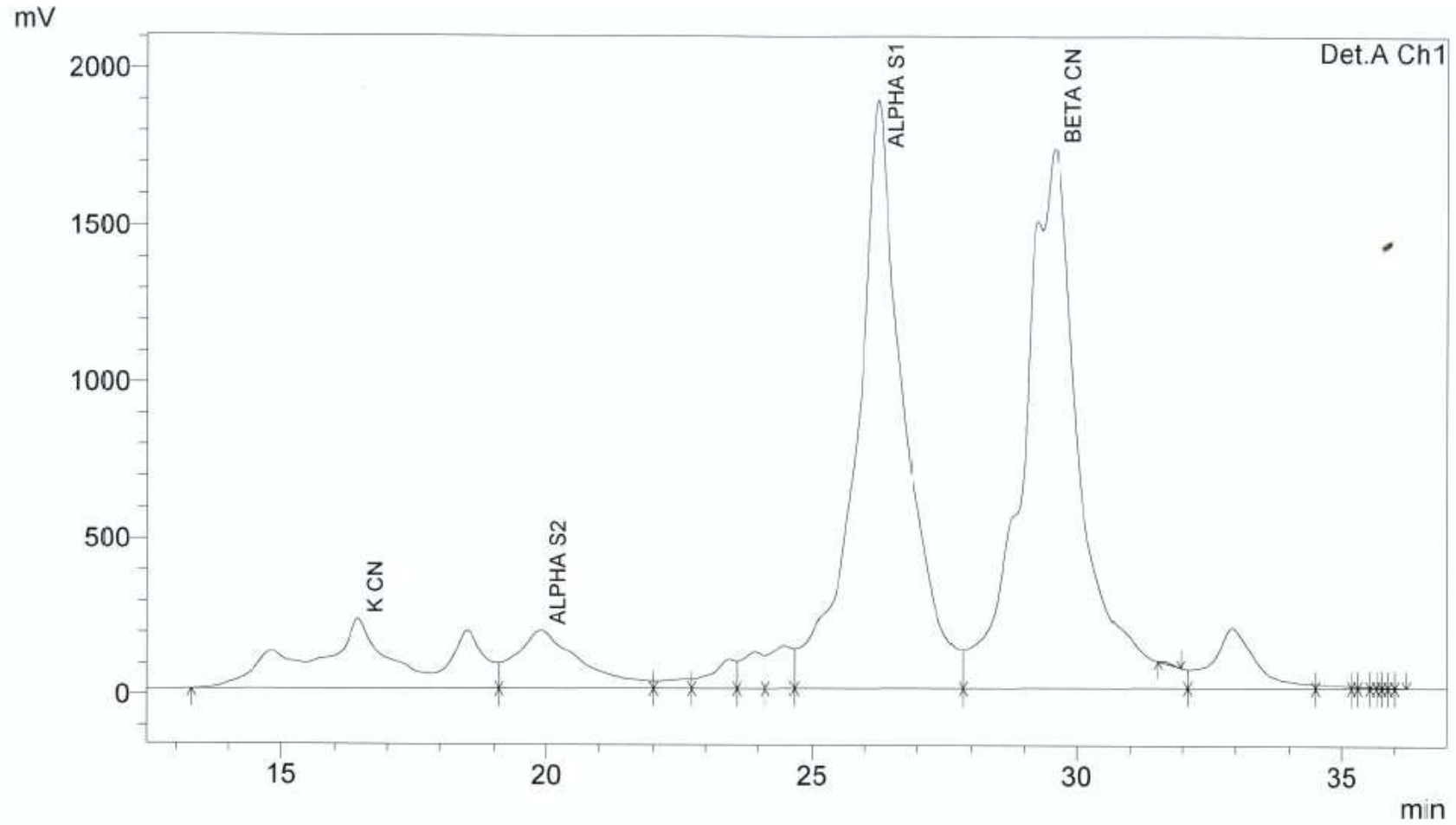


Figura 3. Cromatogramma ottenuto dall'analisi HPLC in fase inversa di un campione di latte contenente una bassa espressione della variante di α_{S1} -CN (alleli AF).

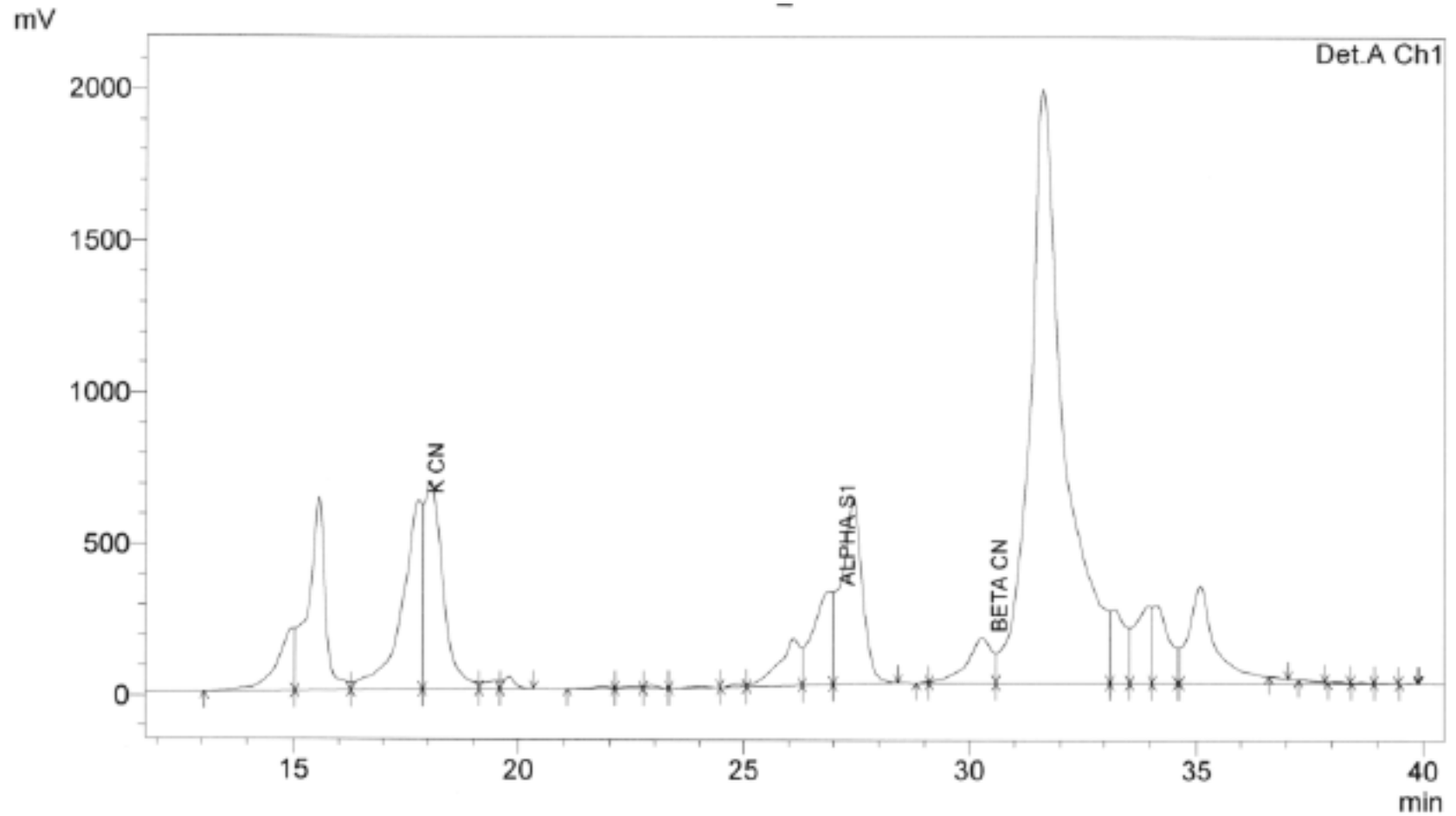
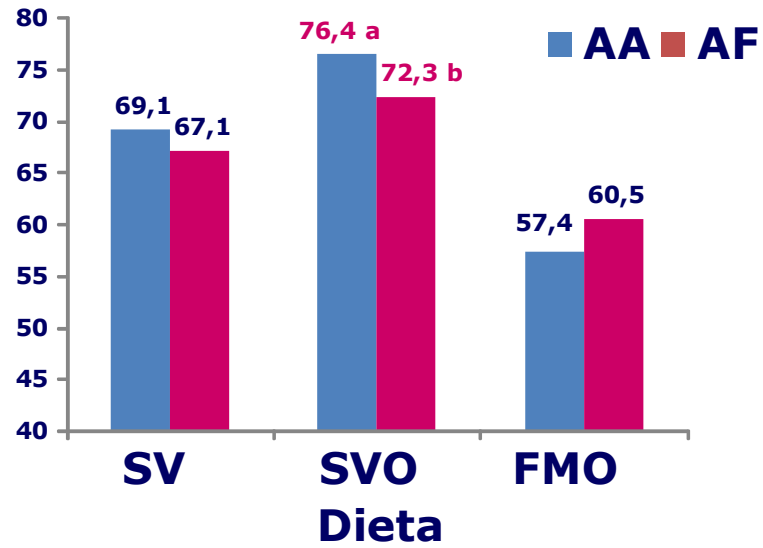
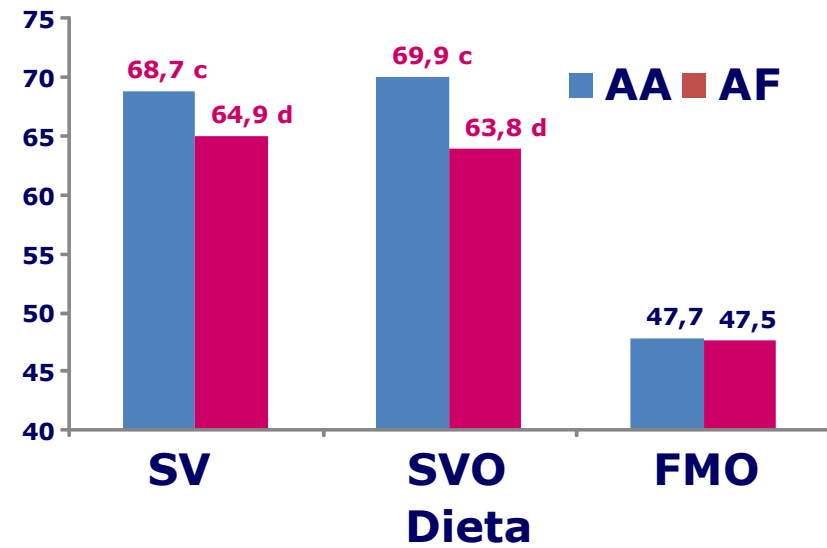


Figura 4. Interazione tra genotipo e dieta della digeribilità della sostanza secca (SS) e delle proteine (PG)

Digeribilità SS, %



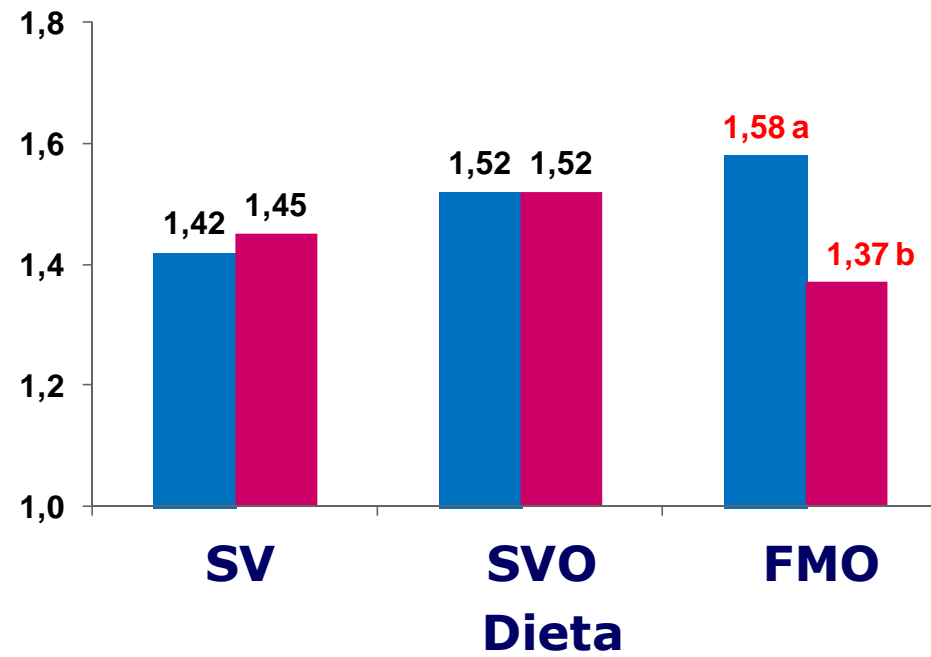
Digeribilità PG, %



a, b: $P \leq 0,05$; c, d: $P \leq 0,10$

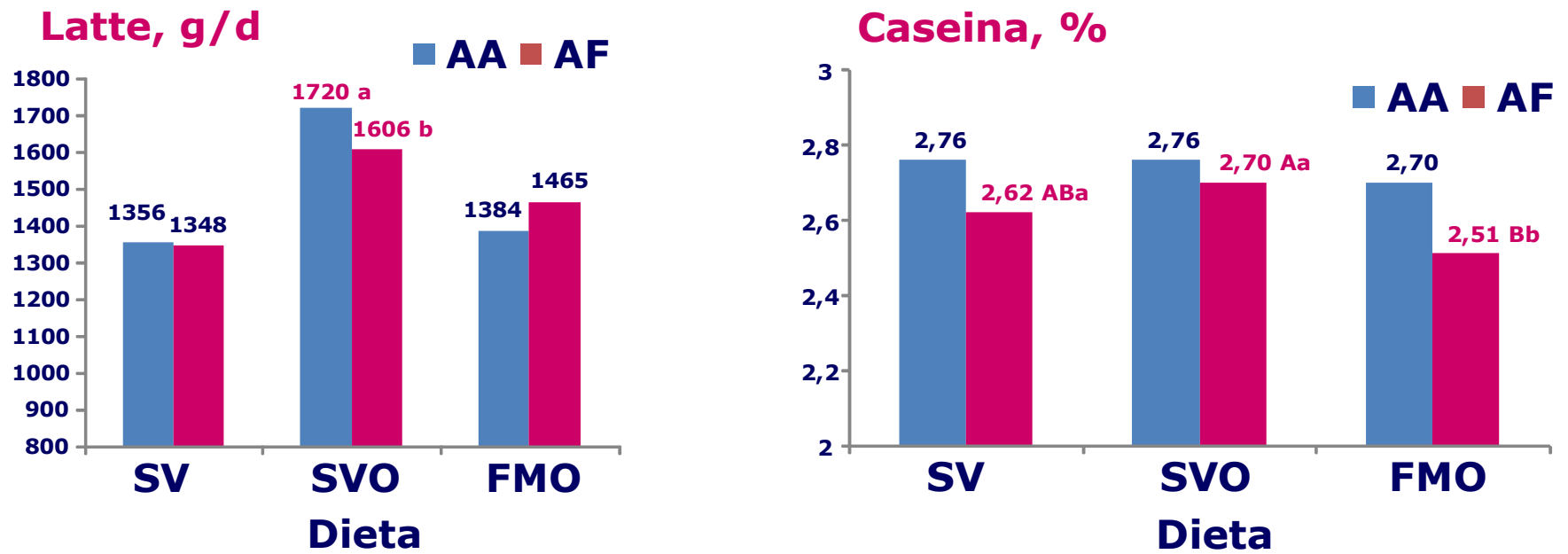
Figura 5. Interazione tra genotipo e dieta dell'ormone fT3

fT3, In+1 pg/ml



a, b: $P \leq 0,05$

Figura 6. Interazione tra genotipo e dieta della produzione di latte e della caseina nel latte



A, B: $P \leq 0,01$; a, b: $P \leq 0,05$

5. Indice Bibliografico

- Addeo F., Mauriello L., Di Luccia A., 1988. A gel electrophoretic study of caprine casein. *J. of Dairy Res.*, 55, 413-421.
- Alais C., 2000. La Secrezione del latte. *Scienza del latte* (3a edizione), 11-17.
- Amato, G., Di Miceli, G., Giambalvo, D., Scarpello, C., Stringi L., 2005. Condensed tannins content in sulla (*Hedysarum coronarium L.*) as affected by environment, genotype and growth stage, in: Bullitta, S. (Eds), *Bioactive compounds in pasture species for phytotherapy and animal welfare*. Cnr-Ispaam, Sassari, Italy, pp. 41 – 54.
- Amigo L., Recio I., Ramos M., 2000. Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on tecnological properties of milk - a review. *International Dairy Journal*, 10, 135-149.
- Antongiovanni M., Buccioni A., Petacchi F., Secchiari P., Mele M., Serra A., 2003. Upgrading the lipid fraction of foods of animal origin by dietary means: rumen activity and presence of trans fatty acids and CLA in milk and meat. *Italian Journal of Animal Science*, 2: 3-28.
- AOAC., 1995. *Official methods of analysis*. (16th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'elevage: consequences sur la reproduction, la physiologie et la qualite' de leurs produits. *Productions Animales*, 15: 67-82.
- Attaie R. e Richter R.L., 2000. Size distribution of fat globules in goat milk. *Journal of Dairy Sci.* May; 83(5): 940-4.
- Avondo M., Pagano R.I., Guastella A.M., Criscione A., Di Gloria M., Valenti B., Lutri L., Pennisi P., 2007. Effect of goat's alpha-s1 casein genotype on diet selection in a free choice feeding system. *Option Méditerranéennes*.
- Avondo M., Pagano R.I., Guastella A.M., Criscione A., Di Gloria M., Valenti B., Piccione G., Pennisi P., 2009a. Diet selection and milk production and composition in Girgentana Goat with different α s1-casein genotype. *J. of Dairy Res.* 76, 202-209.
- Avondo M., Pagano R.I., Guastella A.M., Criscione A., Di Gloria M., Valenti B., Lutri L., Pennini P., 2009b. Effects of goats' alpha-S1 casein genotype on diet selection in a free choice feeling system. *Options Méditerranèennes, Séries A: Mediterranean Seminars*, number 85, 367-371.

- Banni S., Angioni E., Carta G., Murru E., Spada S., Melis M.P., 2001. Proceeding of 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid. June 10-13, Alesund-Norway. 22.
- Banni S., Murru E., Angioni E., Carta G. Melis M., 2002. Conjugated linoleic acid isomers (CLA): good for everything? *Sciences des Aliments*, 22/4, 371-380.
- Bauman D.E., Davis C.L., 1974. Biosynthesis of milk fat. In: *Lactation*. Ed. Larson B.L., Smith V.R., New York, Accademic. 31-75.
- Bauman D.E., Lock A.L., Corl B.A., Ip C., Salter A.M., Parodi P.W., 2006a. Milk fatty acids and human health: potential role of conjugated linoleic acid and trans fatty acids. In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. *Ruminant Physiology*, 529-561. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Bauman D.E., Mather I.H., Wall R.J., Lock A.L., 2006b. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci.* 89, 1235–1243.
- Baumgard L.H., Corl B.A., Dwyer D.A., Saebo A., Bauman D.E., 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 278, 179-184.
- Bencini R., 2002. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. *J. Sci. Agric.* 82, 705-719.
- Bernard L., Leroux C., Hayes H., Gautier M., Chilliard B., Martin P., 2001. Characterization of the caprine stearoyl-CoA desaturase gene and its mRNA showing an unusually long 3'-UTR sequence arising from a single exone. *Gene*, 278, 53-61.
- Bernard L., Rouel J., Leroux C., Ferlay A., Faulconnier Y., Legrand P., Chilliard Y., 2005. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. *J. Dairy Sci.*, 88 pp. 1478-1489.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Vargetto D., Tornambè G., Di Miceli G., Giambalvo D., 2007a. Grazing sulla and/or ryegrass forage for 8 or 24 hours daily. Effects on ewes feeding behaviour. In De Vlieghe, A., Carlier, L., (Eds) *Permanent and Temporary Grassland Plant, Environment and Economy*. European Grassland Federation, Ghent, Belgium, pp. 208-211.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Stringi L., Di Miceli G., Giambalvo D., Tornambè G., Vargetto D., Alicata M.L., 2007b. Intake and milk production of goats grazing sulla forage under different stocking rates. *Italian J. Anim. Sci.* 6 (Suppl. 1), 605–607.
- Bonanno A., Finocchiaro R., Di Grigoli, A., Sardina M.T., Tornambè, D., Gigli I., 2007c. Energy intake effects at pasture on milk production and coagulation properties in Girgentana

- goats with different α S1-casein genotypes. Proceedings of the International Symposium of the International Goat Association (IGA) “The quality of goat products, models and tools for evaluation and promotion”, CRA-ZOE, Bella (PZ), Italy, 191-194. ISBN 978-88-902901-1-4.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Sardina M.T., Tornambè G., 2009. Feed intake, milk composition and cheesemaking properties in Girgentana grazing goats with different genotype at α S1-casein and κ -casein. *Italian Journal of Animal Science*, vol. 8, suppl. 2, 453 (Abstract).
- Bonizzi I., Buffoni J.N., Feligini M., 2009. Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. Approaching the application to a real production context. *Journal of Chromatography A*, 1216, 165–168.
- Boza J., 2005. Alimentacion de la cabra en lactacion. In *High Course of Animal Production*. International Centre of High Mediterranean Agronomic Studies, Zaragoza, Spain.
- Brunelli E., 2008. Le proteine del latte. *Il Latte*, 10, 78-80.
- Bugaud C., Buchin S., Hauwuy A., Coulon J.B., 2002. Texture et flavour du fromage selon la nature du pasturage: cas du fromage d’Abondance. *INRA Productions Animales*, 15 (1), 31-36.
- Burke J.L., Waghorn G.C., McNabb W.C. and Brookes I.M., 2004. The potential of sulla in pasture-based system. *Animal Production in Australia*, 25, 25-28.
- Cabiddu A., Decandia M., Addis M., Piredda G., Pirisi A., Molle G. 2005. Managing Mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research*. 59, 169–180.
- Cabiddu, A., Molle, G., Decandia, M., Spada, S., Fiori, M., Piredda, G., Addis, M., 2009. Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep. Part 2: Effects on milk fatty acid profile. *Liv Sci*. 123(2-3), 230-240.
- Caroli, A., Chiatti F., Chessa S., Rignanese D., Bolla P., Pagnacco G., 2006. Focusing on the goat casein complex. *J. Dairy Sci*. 89:3178–3187.
- Carta G., Murru E., Cordeddu L., Giordano E., Banni S., 2008. Recenti scoperte sulle proprietà nutrizionali dei prodotti ovini e caprini: una nuova classe di cibi funzionali? *Large Animal Review Suppl*. 4, 6-7.
- Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E.G., Luhman C.M., Boylston T.D., Freeman A.E., Beitz D.C., 2004. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various

- milk fatty acid compositions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (11), 3422-3428.
- Chessa S., Chiatti F., Rignanese D., Ceriotti G., Caroli A.M., Pagnacco G., 2008. Analisi in silico delle sequenze caseiniche caprine. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 59, 71-79.
- Chianese L., Ferranti P., Garro G., Mauriello R., Addeo F., 1997. Milk protein polymorphism. *FIL-IDF Palmerston North, New Zeland*, 259-267.
- Chiatti F., Caroli A., Chessa S., Bolla P., Pagnacco G., 2005. Relationships between goat k casein (CSN3) polymorphism and milk composition. *FAO The role of biotechnology*, 370 Villa Gualino, Torino 2-5 Marzo, 163-164.
- Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R.M., Doreau M., 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zoot.* 49, 161-192.
- Chilliard Y., Rouel J., Leroux C., 2006. Goats alpha-S1-casein genotype influences its milk fatty acid composition and delta-9 desaturation ratios. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 474-487.
- Chilliard Y., Glasser F., Ferlay A., Bernard L., Rouel J., Doreau M., 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 828-855.
- Clark S., Sherbon J.W., 2000a. AlphaS1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*, 38, 123-134.
- Clark S., Sherbon J.W., 2000b. Genetic variants of alphaS1-CN in goat milk: breed distribution and associations with milk composition and coagulation properties. *Small Ruminant Research*, 38, 135-143.
- Cochran R.C., Adams D.C., Wallace J.D., Galyean M. L., 1986. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *Journal of Animal Science*, 63:1476.
- Cochran R.C., Vanzant E.S., Delcurto T., 1988. Evaluation of internal markers isolated by alkaline hydrogen peroxide incubation and acid detergent lignin extraction. *Journal of Animal Science*, 66:3245.
- Corl B.A., Baumgard L.H., Dwyer D.A., Griinari J.M., Phillips B.S., Bauman D.E., 2001. The role of $\delta 9$ -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *The J. of Nutritional Biochemistry*, Vol. 12, Issue 11, 622-630.

- Cosenza G., Illario R., Rando A., Di Gregorio P., Masina P., Ramunno L., 2003. Molecular characterization of the goat CSN1S (01) allele. *J. Dairy research.*, 70 (2), 237-240.
- Cosenza G., Pauciullo A., Gallo D., Di Berardino D., Ramunno L., 2005. A SspI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat CSN2 locus. *J. of Dairy Res.* 72 (4), 456-9.
- Cosenza G., Pauciullo A., Colimoro L., Mancusi A., Rando A., Di Berardino D., Ramunno L., 2007. A SNP in the goat CSN2 promoter region is associated with the absence of β -casein in the milk. *Animal Genetics* 38, 655-658.
- Daar I.O., Maquat L.E., 1988. Premature translation termination mediates triosephosphateisomerase mRNA degradation. *Molecular and Cellular Biology*. Vol. 8, 802-13.
- Delacroix-Buchet A., Degas C., Lamberet G., Vassal I., 1996. Influence des variants AA et FF de la caséine α 1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. *Lait*, 76: 217-241.
- Delacroix B.A., 1998. Influence of casein polymorphism on cheese quality. *Revista Argentina de Lactologia*, 17: 51-67.
- Delacroix-Buchet A., Lambert G., 2000. Sensorial properties and typicity of goat dairy products. *Proceeding of 7th conference international sur les Caprins*, Tour, France, 559-563.
- De Luca G., 2007. Una storia importante. L'allevamento della capra, *Edagricole*, 1-10.
- De la Torre Adarve G., Serradilla J.M., Gil Extremera F., Sanz Sampelayo M.R., 2008. Nutritional utilization in Malagueña dairy goats differing in genotypes for the content of α S1-casein in milk. *Journal of Dairy Science*, 91. 2443–2448.
- De la Torre Adarve G., Ramos Morales E., Serradilla J.M., Gil Extremera F., Sanz Sampelayo M.R., 2009. Milk production and composition in Malagueña dairy goats. Effect of genotype for synthesis of α S1-casein on milk production and its interaction with dietary protein content. *Journal of Dairy Research*, 76, 137–143.
- De la Torre M.G., 2006. Interaccion entre el gen de la α S1-caseina el nivel de proteina de la dieta. Utilizacion nutritiva, production composicion de la leche en cabras de raza Malaguenã. PhD thesis. University of Granada, Spain.
- Destailats F., Trottier J.P., Galvez J.M.G., Angers P., 2005. Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. *J. Dairy Sci.* 88, 3231-3239.

- Dewhurst R.J., Shingfield K.J., Lee M.R.F., Scollan N.D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 168–206.
- Di Trana A., Celi P., Claps S., Fedele V., Rubino R., 2006. The effect of hot season and nutrition on the oxidative status and metabolic profile in dairy goats during mid lactation. *Animal Science*, 82: 717-722.
- Di Trana A., Di Gregorio P., Maggio G., Pagano R.I., Avondo M., Di Grigoli A., Bonanno A., 2011. Effect of diet and genotype at CSN1S1 locus on the oxidative stress in lactating goats. 19th Congress of Animal Science and Production Association (ASPA), Cremona, Italy. *Italian Journal of Animal Science*, volume 10: supplement 1, 103 (Abstract 85T).
- FAO, 2007. *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*, edited by B. Rischkowsky & D. Pilling. Rome.
- FIL-IDF, 1964. Determination of the casein content of milk. International Standard FIL-IDF 29. International Dairy Federation ed., Brussels, Belgium.
- FIL-IDF, 1993. Determination of total nitrogen in milk. International Standard FIL-IDF 20B. International Dairy Federation ed., Brussels, Belgium.
- Galliano F., Saletti R., Consolo V., Foti S., Marletta M., Bordonaro S., D'Urso G., 2004. Identification and characterization of a new β -casein variant in goat milk by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, 18, 1972-1982.
- Garippa G., Bufano G., Caroli A., Carta A., Cringoli G., De Nardo F., Filippini G., Leori S.G., Moniello G., Ronchi B., 2008. Realtà e prospettive dell'allevamento dei piccoli ruminanti in Italia. *Small Ruminant Review (Suppl. 4)*, 40-43.
- Gigli I., Maizon D.O., Riggio V., Sardina M.T., Portolano B., 2008. Casein Haplotype Variability in Sicilian Dairy Goat Breeds. *J. Dairy Sci.* 91:3687–3692.
- Graves R., 1955. *I miti greci*. Longanesi, Milano.
- Greppi G.F., Roncada F., 2005. Componente proteica del latte caprino. In *L'alimentazione della capra da latte (Pulina G.)* Ed. Avenue Media Bologna, 71-99.
- Griinari J.M., Bauman D.E., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminant. In: M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, *Acid Research*, vol 1. 180-200. AOCS Press, Champaign, IL.

- Grosclaude F., Mahé M.F., Brignon G., Di Stasio L., Jeunet R., 1987. A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α S1-casein. *Genetic Selection Evolution*, 19, 399-412.
- Grosclaude F., Ricordeau G., Martin P., Remeuf F., Vassal L., Bouillon J., 1994. Du gène au fromage: le polymorphisme de la caséine alfa-s1 caprine, ses effets, son évolution. *INRA Prod. Anim.* 7, 3-19.
- Haenlein G.F.W., 1998. The value of goat and sheep to sustain mountain farmers. *Int. J. Anim. Sci.*, 13, pp.187-194.
- Harmeyer J., Martens H., 1980. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. *Journal of Dairy Science* 63, 1707-1728.
- Harfoot C.G., Hazlewood G.P., 1988. Lipid metabolism in the rumen. *The rumenic Microbiol Ecosystem*. Ed. P.N. Hobson. Elsevier, London, 285-322.
- Hayes H., Petit E., 1993. Mapping of the β -lactoglobulin gene and of an immunoglobulin M heavy chain-like sequence to homoeologous cattle, sheep, and goat chromosomes. *Mamm. Genome*.4, 207-210.
- Hoste, H., Jackson F., Athanasiadou S., Thamsborg S.M., Hoskin, S.O., 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasit.* 22, 253-261.
- Kann G., Houdebine L.M., 1978. Role of prolactin in development and inization of milk secretion. *J. Gynec. Obstet. et Bio. de la Repr.*, 50: 262-274
- Kinsella J.E., 1972. Stearoyl-CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis. *Lipids* 7, 349-355.
- Kitessa S.M., Gulati S.K., Ashes J.R., Fleck E., Scott T.W., Nichols P.D., 2001. Utilisation of fish oil in ruminants II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Anim. Feed Sci. Tech.* 89, 549-556.
- Klose J., 1999. Genotypes e phenotypes. *Electrophoresis*, 20, 643-652.
- ISTAT, (Istituto Nazionale di Statistica) www.agri.istat.it
- Lagonigro R., Pietrola E., D'Andrea M., Vetri C., Pilla F., 2001. Molecular genetic characterisation of the goat α S₂-casein E allele. *Anim. Genet.* 32, 391-3.
- Leroux C., Le Provost F., Petit E., Bernard L., Chilliard Y., Martin P., 2004. Real-time RT-PCR and cDNA macro-array to study the impact of the genetic polymorphism at the α S1-casein

- locums on the expression of genes in the goat mammary gland during lactation. *Reproduction Nutrition Development*, 43 459–469.
- Leto G., Stringi L., Alicata M.L., Giaccone P., Bonanno A., Amato G., 1989. Valore nutritivo in rapporto allo stadio fenologico ed utilizzazione della sulla in ambiente semi-arido. *L'Informatore Agrario*, 31, 49-55.
- Lock A.L., Garnsworthy P.C., 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. *Livestock Production Science*, 79, 47-59.
- Loor J.J., Herbein J.H., Polan C.E., 2002. Trans18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. *J. Dairy Sci.* 85, 1197–1207.
- Macciotta N.P.P., Fresi P., Usai G., Cappio-Borlino A., 2005. Lactation curves of Sarda breed goats estimated with tesr-day models. *J. Dairy Res.*, 88, 1024-1030.
- Mahé M.F., Grosclaude F., 1993. Polymorphism of β -casein in the Creole goat of Guadeloupe: evidence for a null allele. *Génétique Sélection Evolution*, 25, 403-408.
- Mariani P., Pecorari M., 1991. Il ruolo delle varianti genetiche della κ -caseina nella produzione del formaggio. *Sci. e Tecn. Latt. Cas.* 42, 255-285.
- Marletta D., Bordonaro S., Guastella A.M., Criscione A., D'Urso G., 2005. Genetic polymorphism of the calcium sensitive casein in Sicilian Girgentana and Argentata dell'Etna goat breeds. *Small Ruminant Research*, 57, 133-139.
- Marletta D., Criscione A., Bordonaro S., Guastella A.M., D'Urso G., 2007. Casein polymorphism in goat's milk. *Lait* 87, 491-504.
- Marletta D., Bordonaro S., 2011. Recupero e conservazione "in situ": Il caso della razza Girgentana. In *La salvaguardia della biodiversità animale*. Ed. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche Brescia, 135-140.
- Martin P., Ollivier-Bousquet M., Grosclaude F., 1999. Genetic polymorphism of casein: a tool to investigate casein micelle organization. *Int. Dairy J.*, Vol. 9, 163-171.
- Martin P., Szymanowska M., Zwierzchowski L., Leroux C., 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminants milks. *Reproduction Nutrition Development* 42: 433-459.
- Mazziotta A., Gennaro G., 2002. Le origini: Amaltea. *La Girgentana*. Ed. A e'è V – Sicilia. 27-49.

- McMurray C.H., Blanchflower W.J., 1979. Application of high performance fluorescence method for rapid determinations of a-tocopherol in the plasma of cattle and pig, and its comparison with direct fluorescence and high performance liquid chromatography ultraviolet detection methods. *Journal of Chromatography* 170: 525-531.
- McGuire M.A., and McGuire M.K., 2000. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.*, 118.
- Mele M., Buccioni A., Serra A., Antongiovanni M., Secchiari P., 2005. Lipidi del latte di capra: meccanismi di sintesi e principali fattori di variazione. *L'alimentazione della capra da latte*. Ed. Avenue Media, 45-69.
- Mele M., Serra A., Conte G., Pollicardo A., Del Viva M., Secchiari P., 2007. Whole extruded linseed in the diet of dairy ewes during early lactation: effect on the fatty acid composition of milk and cheese. *Ital. J. Anim. Sci.* 6 (suppl. 1), 560-562.
- Miller J.K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F.C., 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science* 76: 2812-2823.
- Min B.R., Barry T.N., Attwood G.T., McNabb W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants feed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 3-19.
- Moioli B., Pilla F., Tripaldi C., 1997. Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats: a review. *Small Rum. Res.* 27, 185-195.
- Molle G., Decandia M., Fois N., Ligios S., Cabiddu A., Sitzia M., 2003. The performance of Mediterranean dairy sheep given access to sulla (*Hedysarum coronarium* L.) and annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin) pastures in different time proportions. *Small Ruminant Research*, 49, 319-328.
- Molle G., Decandia M., Giovannetti V., Cabiddu A., Fois N., Sitzia M., 2009. Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep. Part 1: effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. *Liv. Sci.* 123, 138:146.
- Morand-Fehr, P., Sanz Sampelayo M. R., Fedele Y. V., Le Frileux Y., Eknaes M. Schmidely Ph., Giger-Reverdin S., Bas P., Rubino R., Havrevall Ø., Sauvant D., 2000. Effect of feeding on the quality of goat milk and cheese. Pages 53–65 in *Proc. 7 Int. Conf. Goat*. Vol. 1. Tours, France. *Int. Goat Assoc.*

- Morand-Fehr P., Fedele V., Decandia M., Le Frileux Y., 2007. Influence of farming and feeding system on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Rum.Res.* 68, 28-34.
- National Research Council (NRC), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised ed., National Academy Press, Washington, D.C.
- Neveu C., Riaublanc A., Miranda G., Chich J.F., Martin P., 2002. Is the apocrine milk secretion process observed in the goat species rooted in the perturbation of the intracellular transport mechanism induced by defective alleles at the alpha (s1)-Cn locus? *Reprod. Nutr. Dev.* 42, 163-172.
- Niezen J.H., Charleston W.A.G., Robertson H.A., Shelton D., Waghorn G.C., Green R., 2002. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or Lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 105: 229-245.
- Nudda A., Mele M., Battacone G., Usai M.G., Macciotta N.P.P., 2003. Comparison of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of ewes and goat with the same dietary regimen. *Ital. J. Anim. Sci. (Suppl. 1)* 515-517.
- Ollier S., Chauvet S., Martin P., Chilliard Y., Leroux C., 2008. Goat's α S1-casein polymorphism affects gene expression profile of lactating mammary gland. *Animal* 2 (4), 473–566.
- Pagano R.I., Pennisi P., Valenti B., Lanza M., Di Trana A., Di Gregorio P., De Angelis A., Avondo M., 2010a. Effect of CSN1S1 genotype and its interaction with diet energy level on milk production and quality in Girgentana goats fed ad libitum. *Journal of Dairy Research*. 77, 245-251.
- Pagano R.I., Di Trana A., Valenti B., De Angelis A., Avondo M., Di Gregorio P., Pennisi P., 2010b. Interaction diet energy level x genotype at alpha S1 casein locus in lactating goats fed ad libitum: effects on metabolic and endocrinal response. Energy and protein metabolism. EAAP publication No. 127. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 323-324.
- Pappalardo M., Gallo D., Cosenza G., Pastore N., Senese C., Rubino R., Marletta D., Ramunno L., 2001. Molecular analysis of the goat β -Lactoglobulin gene: Preliminary results. *Proc. XIV Congress ASPA, Firenze, 12-15 June*, pp. 61-63.
- Parodi P.W., 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 82, 1339-1349.

- Persuy M.A., Printz C., Medrano J.F., Mercier J.C., 1999. A single nucleotide deletion resulting in a premature stop codon is associated with marked reduction of transcripts from a goat β -casein null allele. *Animal Genetics*, 30, 444-51.
- Peterson D.G., Matitashvili E.A., Bauman D.E., 2004. The inhibitory effect of trans 10, cis-12 CLA on lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells involves reduced proteolytic activation of the transcription factor SREBP-1. *J. of Nutrition*, 134, 2523-2527.
- Piroddi R., 2008. La legislazione sull'igiene degli alimenti nella filiera dei piccolo ruminanti. *Supplemento. Large Animal Review*. 14, 79-82.
- Popescu C.P., Long S., Riggs P., Womack J., Schmutz S., Fries R., Gallagher D.S., 1996. Standardization of cattle karyotype. *Cytogenet Cell Genet*. 74, 259-261.
- Porter L.J., Hrstick L.N., Chan B.G., 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyniadin and delphinidin. *Phytochemistry*. 25, 223–230.
- Pringle H., 1998. Neolithic agriculture: reading the signs of ancient animal domestication. *Science*, 282: 1448.
- Prinzenberg E.M., Gutscher K., Chessa S., Caroli A., Erhardt G., 2005. Caprine κ -Casein (CSN3) Polymorphism: New Developments in Molecular Knowledge. *J. Dairy Sci.* 88: 1490–1498.
- Pulina G., Battacone G., Nudda A., 2005. La produzione del latte nei caprini. L'alimentazione della capra da latte. Ed. Avenue Media (Bologna), 9-25.
- Qi P.X., 2007. Studies of casein micelle structure: the past and the present, *Lait* 87, 363-383.
- Ramunno L., Rando A., Pappalardo M., Fiorella A., Di Gregorio P., Capuano M., Masina P., 1994. Molecular analyses on quantitative alleles at goat β -Cn and cow α 1-Cn loci. XXIX Simp. Int. Zoot., Milano, 233-240.
- Ramunno L., Cosenza G., Pappalardo M., Pastore N., Gallo D., Di Gregorio P., Masina P., 2000. Identification of the goat CSN1S1 F allele by means of PCR-RFLP method. *Animal Genetics* 31, 333–346.
- Ramunno L., Cosenza G., Pappalardo M., Longobardi E., Gallo D., Pastore N., Di Gregorio P., Rando A., 2001a. Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus. *Anim. Genet.*, 32, 264-268.
- Ramunno L., Longobardi E., Pappalardo M., Rando A., Di Gregorio P., Cosenza G., Mariani P., Pastore N., Masina P., 2001b. An allele associated with a non-detectable amount of α S2-casein in goat milk. *Anim. Genet.*, 32, 19-26.

- Ramunno L., Cosenza G., Rando A., Pauciullo A., Illario R., Gallo D., Di Bernardino D., Masina P., 2005. Comparative analysis of gene sequence of goat CSN1S1 F and N alleles and characterization of CSN1S1 transcript variants in mammary gland. *Gene* 345 (2), 289-299.
- Ramunno L., Pauciullo A., Mancusi A., Cosenza G., 2006. Genetica e qualità del latte di capra. XXVII Congresso SIPAOC 25/28 Ottobre, Lamezia Terme. 51-58.
- Ramunno L., Cosenza G., Crepaldi P., Pilla F., 2008. Biologia molecolare e miglioramento genetico delle caratteristiche quali-quantitative del latte ovi-caprino. *Supplemento Large Animal Review*, 14, 117-121.
- Rando A., Pappalardo M., Capuano M., Di Gregorio P., Ramunno L., 1996. Two mutations might be responsible for the absence of α -casein in goat milk. In *Proceeding International Conference on Animal Genetics*, *Animal Genetics* 27, (Suppl.2): 31.
- Remeuf F., 1993. Influence du polymorphisme génétique de la caséine alfa-S1 caprine sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques du lait. *Lait*, 73, 549-557.
- Rijnkles M., 2002. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. Review*, 7(3), 327-345.
- Roberts B., Di Tullio P., Vitale J., Hehir K., Gordon K., 1992. Cloning of the goat β -casein-encoding gene and expression in transgenic mice. *Gene*, 121, 255-262.
- Sacchi P., Chessa S., Budelli E., Bolla P., Ceriotti G., Soglia D., Rasero R., Cauvin E., Caroli A., 2005. Casein haplotype structure in five Italian goat breeds. *J. Dairy Sci.* 88, 1561-68.
- Sanz Sampelayo M.R., Chilliard Y., Schmidely Ph., Boza J., 2006. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Rum. Res* 68, 42-63.
- Sardina M.T., Bellester M., Marmi J., Finocchiaro R., Van Kaam J., Portolano B., Folch J., 2006. Phylogenetic analysis of Sicilian goat reveals a new mtDNA lineage. *Animal Genetics*, 37(4): 376-378.
- Sardina M.T., Rosa A.J.M., Braglia S., Scotti E., Portolano B., 2009. Identification of SNPs in the promoter of beta-lactoglobulin gene in three Sicilian goats. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (Suppl. 2), 147-149.
- S.A.S., 2004. *SAS/STAT Qualification Tools User's Guide (version 9.1.2)*. Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Schilirò A., 2006. Sviluppo e Sostegno pubblico degli allevamenti ovi-caprini. In: *Analisi tecnico-economica sugli allevamenti ovi-caprini in Sicilia*. Coreras/Regione Sicilia, Catania, 07-21.

- Schmidely P., Morand-Fehr P., Sauvant D., 1997. Effects of genetic variant for alphaS1 casein and diet nitrogen content on the response of some plasma characteristics after alanine infusion in early and mid lactation goats. *Options Méditerranéennes, Séries A: Mediterranean Seminars*, 155-158.
- Schmidely P., Meschy F., Tessier J., Sauvant D., 2002. Lactation response and nitrogen, calcium and phosphorus utilization of dairy goats differing by the genotype for alphaS1-casein in milk, and fed diets varying in crude protein concentration. *J. Dairy Sci.* 85, 2299-2307.
- Secchiari P., Mele M., Serra A., Casarosa L., Andreotti L., 2004. Effetti del pascolo sul contenuto di CLA e di acido vaccenico nel latte, nel formaggio e nella ricotta di pecore di razza Sarda. *Atti 16° Congresso Nazionale SIPAOC, Siena, Italia*.324.
- Secchiari P.L., Carnier P., Priolo A., Mele M., 2009. Basi genetiche e fisiologiche della qualità degli alimenti di origine animale. *Ital. J. Agron. / Riv. Agron.*, (Suppl.1):81-102.
- Serradilla J.M., 2003. The goat α S1-CN gene: A paradigm of the use of a major gene to improve milk quality? *Options Méditerranéennes, Série A*, 55: 99-106.
- Sunvold G.D., Cochran R.C., 1991. Technical note: evaluation of acid detergent lignin, alkaline peroxide lignin, acid insoluble ash, and indigestible acid detergent fiber as internal markers for prediction of alfalfa, bromegrass, and prairie hay digestibility by beef steers. *Journal of Animal Science*, 69:4951-4955.
- Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mammen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S., 2003. Genotype of Stearoyl-CoA Desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese black cattle. *Mamm. Gen. Gen. Phen*, 14, 142-148.
- Tava A., De Benedetto M.G., Tedesco D., Di Miceli G., Piluzza G., 2005. Proanthocyanidins from *Hedysarum*, *Lotus* and *Onobrychis* spp. growing in Sardinia and Sicily and their antioxidant activity, in: *Proceedings of 20th International Grassland Congress*. Dublin, Ireland, pp 271.
- Todaro M., Di Grigoli A., Tornambè G., Di Gregorio P., Giaccone P., Bonanno A., 2010. Influenza del genotipo per l'alfa (S1)-caseina sulla qualità del latte di capre Maltesi. *XIX Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C, Large Animal Review, supplemento al n. 5*, 109 (Abstract).
- Todini L., 2007. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal*, 1:7, 997-1008.

- Ulberth F., Henninger M., 1994. Quantification of trans fatty acids in milk fat using spectroscopic and chromatographic methods. *J. Dairy Res.* 61, 517-527.
- Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338, 985-992.
- Valenti B., Pagano R.I., Pennisi P., Avondo M., 2009. The role of polymorphism at α S1-casein locus on milk fatty acid composition in Girgentana goat. *Ital. J. Anim. Sci.* vol 8 (Suppl.2), 441-443.
- Valenti B., Pagano R.I., Pennisi P., Lanza M., Avondo M., 2010. Polymorphism at α S1-casein locus. Effect of genotype x diet interaction on milk fatty acid composition in Girgentana goat. *Small Rum. Res.* 94, 210-213.
- Valenti B., Pagano R.I., Avondo M., 2011. Effect of diet at different energy levels on milk casein composition of Girgentana goats differing in CSN1S1 genotype. *Small Ruminant Research*, doi:10.1016/j.smallrumres.2011.11.013.
- Valentine C.R., 1998. The association of nonsense codons with exon skipping. *Mutation Research.*, Vol. 411, Issue 2, 87-117.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- Vlaeminck B., Fievez V., Cabrita A.R.J., Fonseca A.J.M., Dewhurst R.J., 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 389-417.
- Waghorn G.C., McNabb W.C., 2003. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. In: *Proceedings of the Nutrition Society* 62, pp. 383-392.
- www.agrinovazione.regione.sicilia.it
- www.assonapa.it 2010.
- Zannoni M., Annibaldi S., 1981. Standardization of the renneting ability of milk by Formagraph. *Scienza e Tecnologia Lattiero Casearia*, 32, 79-94.
- Yurawecz M.P., Roach J.A.G., Sehat N., Mossoba M.M., Kramer G., Fritsche J., Steinhart H., Ku Y., 1998. A new conjugated linoleic acid isomer, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids.* 33, 803-809.

6. Pubblicazioni

Nel 2011, alcune parti del lavoro oggetto di tesi sono state presentate come comunicazione orale al 19th Congress of Animal Science and Production Association (ASPA), tenutosi a Cremona dal 7 al 10 giugno, e come poster al 8th International Symposium on the Nutrition of Herbivores (ISNH8), tenutosi ad Aberystwyth, Wales (UK) dal 6 al 9 settembre.

Seguono i riferimenti bibliografici e il testo dell'abstract di ciascuna presentazione, quindi copia del poster.

Bonanno A., Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Mazza F., Todaro M., 2011. Effects of nutritional level on lactation response of Girgentana goats with different CSN1S1 genotype. 19th Congress of Animal Science and Production Association (ASPA), Cremona, Italy. Italian Journal of Animal Science, volume 10: supplement 1, 4 (Abstract C-009).

Bonanno A., Di Trana A., **Bellina V.**, Tornambè G., Di Grigoli A., Todaro M., Di Gregorio P., Maggio G., 2011. Effect of diet and CSN1S1 genotype on nutritional, productive and metabolic responses of milking Girgentana goats. Proceedings of the 8th International Symposium on the Nutrition of Herbivores (ISNH8). In: Advanced in Animal Biosciences, Cambridge University Press, volume 2 issue 2, 542 (Abstract). ISSN 2040-4700 EISSN: 2040-4719. Published online by Cambridge University Press, doi: 10.1017/S2040470011002809.

Altre pubblicazioni:

Bonanno A., Tornambè G., Di Grigoli A., Genna V., **Bellina V.**, Di Miceli G., Giambalvo D., 2012. Effect of legume grains as a source of dietary protein on the quality of organic lamb meat. J. Sci. Food Agric., (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.5616.

Settanni L., Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Francesca N., Moschetti G., Bonanno A., 2012. Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during 2 the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese. International Journal of Food Microbiology, DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.022.

Di Grigoli A., Settanni L., Tornambè G., Francesca N., **Bellina V.**, Moschetti G., Bonanno A., 2011. Effetti della tecnologia tradizionale di caseificazione sulle caratteristiche microbiologiche e organolettiche del Caciocavallo Palermitano. Book del I Congresso Nazionale della Rete Italiana per la Ricerca in Agricoltura Biologica (RIRAB) "L'agricoltura

- biologica in risposta alle sfide del futuro: il sostegno della ricerca e dell'innovazione". 7-8 novembre, Catania. Edito dall'ENEA, 77-78 (B2). ISBN 978-88-8286-250-3.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Mazza F., Gristina L., 2011. Analisi degli isotopi stabili e della composizione acidica per l'identificazione dei formaggi ovini biologici. Abstract Book del I Congresso Nazionale della Rete Italiana per la Ricerca in Agricoltura Biologica (RIRAB) "L'agricoltura biologica in risposta alle sfide del futuro: il sostegno della ricerca e dell'innovazione". 7-8 novembre, Catania. Edito dall'ENEA, 101 (Abstract B22). ISBN 978-88-8286-250-3.
- Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Maniaci G., Mazza F., Alicata M.L., Bonanno A., 2011. Effetto del sistema di allevamento e della tecnologia di caseificazione sulla qualità del formaggio Caciocavallo Palermitano. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 62 (2), 1-11.
- Di Grigoli A., Tornambè G., Genna V., **Bellina V.**, Mazza F., Alicata M.L., Bonanno A., 2011. L'impiego alimentare di orzo germinato nella produzione di latte ovino biologico. Atti del Convegno finale sul "Progetto per lo Sviluppo dell'Agricoltura Biologica in Sicilia", 28 settembre, Palermo, 285-293.
- Settanni L., Tornambè G., Di Grigoli A., Francesca N., **Bellina V.**, Moschetti G., Bonanno A., 2011. Microbiological characteristics of traditional Caciocavallo Palermitano cheese making. In: "Dairy production in mountain: farming systems, milk and cheese quality and implications for the future". Proceeding of the 10th International Meeting on Mountain cheese, 14-15 september 2011 Dronero (CN), Italy, ed. University of Turin, Italy, pp. 85-86. ISBN 978-88-902754-5-6.
- Tornambè G., Di Grigoli A., **Bellina V.**, Mazza F., Bonanno A., 2011. Effects of farming system and cheese making technology on quality traits and fatty acid profile of Caciocavallo Palermitano cheese at different ripening time. In: "Dairy production in mountain: farming systems, milk and cheese quality and implications for the future". Proceeding of the 10th International Meeting on Mountain cheese, 14-15 september 2011 Dronero (CN), Italy, ed. University of Turin, Italy, pp. 15-16. ISBN 978-88-902754-5-6.
- Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Genna V., Bonanno A., 2011. Zootecnica: uno studio per l'integrazione alimentare con granelle prodotte localmente. *Agriscilia*, 9, 62-66. ISSN 2039-8212.
- Bonanno A., Tornambè G., Di Grigoli A., **Bellina V.**, Di Miceli G., Giambalvo D., 2011. Effect of legume grains as dietary protein source on the quality og organic lamb meat. First

International Conference on Organic Food Quality and Health Research, Prague, Czech Republic, Book of Abstract, 116 (Abstract E2).

Di Grigoli A., Tornambè G., Genna V., **Bellina V.**, Bonanno A., 2010. Produzione a ciclo continuo in ambiente idroponico di germogli di orzo e avena per l'alimentazione degli ovini. Quaderno divulgativo, Progetto rete di filiera "Zootecnia da latte" 2009-2010, Regione Siciliana, Assessorato delle Risorse Agricole e Alimentari, Dipartimento Interventi Infrastrutturali per l'Agricoltura, Servizio V Interventi per lo Sviluppo Agricolo e Rurale, UOS Zootecnia Sviluppo Rurale di Cammarata (AG), 13-14.

Bonanno A., Di Grigoli A., Tornambè G., **Bellina V.**, Mazza F., Alicata M.L., 2010. Integrazione con granelle di leguminose per la produzione di latte ovino biologico. XIX Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C, Large Animal Review, supplemento al n. 5, 58 (Abstract).

Di Grigoli A., Di Miceli G., Todaro M., **Bellina V.**, Mazza F., Alicata M.L., Bonanno A., 2010. Effetto della tecnica di pascolamento sulla produzione di latte ovino. XIX Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C, Large Animal Review, supplemento al n. 5, 75 (Abstract).

C-009

Effects of nutritional level on lactation response of Girgentana goats with different *CSN1S1* genotype

Adriana Bonanno, Antonino Di Grigoli, Gabriele Tornambè, Vincenzo Bellina, Francesca Mazza, Massimo Todaro

Dipartimento Demetra, Università di Palermo, Italy

Corresponding author: abonanno@unipa.it

Goat polymorphism at α s1-casein loci (*CSN1S1*) influences milk yield and composition. Milk of goats with strong alleles associated to high α s1-casein shows higher fat and casein, longer coagulation time, firmer curds and variation in fatty acids than milk from goats with weak alleles linked to low α s1-casein. Since these milk properties are also affected by nutrition, the aim of this study was to investigate the impact of nutritional level on milk production traits of Girgentana goats with different *CSN1S1* genotype. From a group of goats genotyped using PRC protocols at DNA level, 12 goats having the same genotype at α s2, β and κ -casein loci and differing for *CSN1S1* genotype were selected: 6 were homozygous for strong alleles (AA) and 6 heterozygous of strong and weak alleles (AF). Within each genotype, goats were divided into 3 sub-groups based on days of milk (50 or 120 d), housed individually and fed ad libitum with 3 diets in a 3x3 Latin square design with periods of 21 d (14 d for adaptation, 7 d for measuring and sampling). The diets with different nutritional levels were as follows: fresh sulla (*Hedysarum coronarium L.*) (FS); fresh sulla and 800 g/d of barley (FB); sulla hay and 800 g/d of barley (HB). The milk yield increased passing from FS to HB and FB (1352, 1423, 1664 g/d; $P < 0.01$). The effect of genotype on milk yield was linked to the nutritional level, since the milk from FB was higher by 350 g/d in AA and 200 g/d in AF goats. In both genotypes, barley supplement reduced milk fat (3.6, 3.2, 3.0% in FS, FB, HB; $P < 0.01$) and urea (35, 32, 31 mg/dL in FS, FB, HB; $P < 0.01$), and fresh sulla increased casein content (2.7, 2.7, 2.6% in FS, FB, HB; $P < 0.01$). The AA genotype did not increase the casein percentage, but AA milk showed longer coagulation time (r : 16 vs 13 min; $P < 0.01$) and higher curd firmness (a_{30} : 35 vs 29 mm; $P < 0.01$) than AF milk. In this study, *CSN1S1* genotype showed to interact with nutritional level only for milk yield.

Acknowledgement

The research was funded by MIUR, project 2007B4JBWN_002.

C-010

Sialyl oligosaccharides content in colostrum and early milk of two goat breeds

Salvatore Claps, Maria Antonietta Di Napoli, Anna Rocchina Caputo, Lucia Sepe, Vincenzo Fedele, Giovanni Annicchiarico, Domenico Rufrano

CRA, Unità di Ricerca per la Zootecnia Estensiva, Bella, Italy

Corresponding author: salvatore.claps@entecra.it

Milk oligosaccharides provide numerous important biological functions, such as prevention of pathogen binding to the intestinal epithelium and nutritive source for beneficial bacteria. Aim of this work was to study comparatively the variation of oligosaccharide contents in two stages of lactation in two goat breeds. Individual samples from fresh milk and colostrum were obtained from 10 Maltese goats (M) and 8 Garganica goats (G). Each goat provided one sample from the following stages: Colostrum 0h (immediately after kidding); Colostrum 24h; early milk (d 7). The samples, from the morning milking, were immediately frozen at -20°C , lyophilized and homogenized. 3'-sialyllactose (3'SL), 6'-sialyllactose (6'SL) and disialyllactose (DSL) content (mg/L) were analyzed by HPLC. Statistical analysis was carried out by one-way ANOVA (SAS 9.1.3). The differences among breeds were analysed by Duncan multiple range test. The results clearly showed a breed effect at each lactation stage (colostrum 0 and 24h, early milk) on the content of the three oligosaccharides. The colostrum of G breed showed the highest content of 3'-SL both at 0h (253.9 vs 201.3 mg/L) and at 24h (328.5 vs 249 mg/L) and the highest of 6'-SL (174.3 vs 136.9 mg/L at 0h and 200.9 vs 144.1 mg/L at 24h). DSL showed the highest value at 0h (197.9 vs 104.9), and 24h the lowest content (126.4 vs 228.1 mg/L). Also in early milk G breed showed the highest content of 3'-SL and 6'-SL but the lowest content of DSL (94.5 vs 153.2 mg/L). In conclusion, the content of sialyl oligosaccharides changed during the first seven days of lactation with significant differences between the goat breeds.

Acknowledgement

Research carried out within the project GENZOOT (D.M. 12369/7303/08) "Biodiversity and prebiotic characteristics of goat milk", supported by the Ministry of Agricultural, Food and Forestry Policies.

Effect of diet and CSN1S1 genotype on nutritional, productive and metabolic responses of milking Girgentana goats

A Bonanno¹, A Di Trana², V Bellina¹, G Tornambè¹, A Di Grigoli¹, M Todaro¹, P Di Gregorio², G Maggio²

¹Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy, ²Università degli Studi della Basilicata, Potenza, Italy

Email: abonanno@unipa.it

Introduction Goat polymorphism at α_{s1} -casein locus (CSN1S1) influences several milk production traits. In fact, milk from goats carrying strong alleles, associated to high α_{s1} -casein level, resulted higher in fat and casein and showed longer coagulation time and firmer curds (Mahé and Grosclaude, 1993) compared with milk from goats with weak alleles linked to low α_{s1} -casein content. As these milk properties are also affected by nutrition, it is of some interest to consider the interaction of the CSN1S1 genotype and dietary characteristics. Few studies focusing on this aspect, demonstrated that strong alleles are related to a greater efficiency of protein utilization (De la Torre et al. 2009), and to a better response to high dietary energy level compared to weak alleles (Pagano et al. 2010). In order to contribute to the knowledge of the relationships between nutrition and CSN1S1 genotype in goats, this study was aimed to investigate the impact of fresh forage based diet and/or energy supplement on feeding behaviour, milk production, metabolic and hormonal parameters and oxidative stress of Girgentana goats with different genotype at CSN1S1 locus.

Materials and Methods From a group of milking goats genotyped using specific PRC protocols at DNA level, 12 goats, averaging 37.2±3.5 kg of live weight, were selected for having the same genotype at CSN1S2, CSN2 and CSN3 loci and differing for the CSN1S1 genotype (G): 6 goats were homozygous for a strong allele (AA) and 6 heterozygous for a weak alleles (AF). Goats of each genotype were allocated homogeneously, based on days in milking (DIM, 50 or 120 days), to 3 sub-groups and fed *ad libitum* in individual pen with 3 diets, in a 3 x 3 Latin square design with 3 periods (P) comprised of 14 days for adaptation and 7 days for data and samples collection. The diets (D) were sulla (*Hedysarum coronarium* L.) fresh forage (SFF), sulla fresh forage plus 800 g/d of barley meal (SFB), mixed hay plus 800 g/d of barley meal (MHB), with 130, 95 and 85 protein/energy ratio (P/E, g protein/Mcal net energy), respectively. During experimental period, milk production and feed intake were measured every day, and milk quality was detected three times. Blood samples were collected at the end of pre-experimental and experimental periods. Plasma content of NEFA, glucose, insulin, fT3 and fT4 was detected; also same plasma markers of oxidative stress were measured as Reactive Oxygen Metabolites (ROMs), biological antioxidant potential (BAP) and α -tocopherol. Data were analysed by a mixed model with DIM, P, G, D and GxD as fixed effects, and goat as random effect. Data of pre-experimental period were used as covariates.

Results There was no significant effect of G and interaction GxD on dry matter (DM) and nutrients intake, efficiency of dietary protein utilization for milk casein synthesis (EPU), glucose, NEFA, insulin, ROMs, BAP and α -tocopherol content. With regard to D effect, DM intake was lower with MHB than SFF and SFB (1655 vs. 1820, 1807 g/d; P<0.01), whereas protein intake increased passing from MHB to SFB and SFF (203 vs. 290 vs. 321 g/d, P<0.01). NE intake was higher in SFB (3.0 vs. 2.3, 2.4 Mcal/d for SFB, MHB, SFF; P<0.01), and ingested NDF was higher in SFF than in MHB and SFB (632 vs. 539, 483 g/d; P<0.01). The diet greatly affected milk yield, which increased from SFF to MHB and SFB (1353 vs. 1423 vs. 1664 g/d; P<0.01). The significant effect of GxD on milk yield (P<0.01) was linked to the superiority induced by SFB diet in AA than in AF goats (1720 vs. 1608 g/d; P<0.05). Milk composition was affected by D equally in both genotypes. Barley supplement contributed to reduce fat (36 vs. 32 vs. 30 g/kg in SFF, SFB, MHB; P<0.01) and urea in milk (35 vs. 32, 31 mg/dl in SFF, SFB, MHB; P<0.01), whereas the fresh forage increased the casein content (27, 27 vs. 26 g/kg in SFF, SFB, MHB; P<0.01). The EPU was the highest in MHB group, due to lower protein intake, whereas it was favoured by energy supplement (191 vs. 164 vs. 115 g casein/kg protein intake in MHB, SFB, SFF; P<0.01). The milk of AA goats showed longer coagulation time (τ : 15 vs. 14 min; P<0.05) and higher curd firmness (a_{30} : 36 vs. 29 mm; P<0.01) than AF milk. The D affected NEFA, ROMs and BAP. SFF showed the higher NEFA than other diets (0.39 vs. 0.23, 0.21 mmol/l in SFF, MHD, SFB; P<0.01). The BAP increased in groups that utilized fresh forage compared to group fed mixed hay (7.68 vs. 8.01, 7.99 ln μ mol/l in MHB, SFF, SFB; P<0.05). The ROMs level was lower in SFF goats (3.90 ln U.Carr) compared to MHB and SFB. A significant effect of G (P<0.05) was detected on fT4, which was higher by 15% in the AF than in the AA (1.02 vs. 0.88 ng/dl; P<0.05). A slight increase of fT3 was detected in AA compared to AF (3.58 vs. 3.36 pg/ml; P=0.10). Interaction GxD (P<0.05) was found for fT3, being higher in AA goats than AF goats (3.92 vs. 3.03 pg/ml) but only when fed the MHB diet.

Conclusions In this study, the diet showed a more important effect than genotype. As expected, energy supplement improved DM and protein intake, milk yield and dietary protein utilization for milk casein, and reduced milk fat and urea, whereas the sulla fresh forage based diets increased casein and showed higher protection against oxidative stress than dry diet. The higher NEFA of the SFF goats indicates that they supported the energy deficit by body fat reserve mobilization. The CSN1S1 genotype interacted with diet only for milk yield, since the SFB diet, due to a better balanced P/E ratio and lower NDF intake, increased milk yield of AA goats, but this improvement was less pronounced in AF goats. Although the genotype AA did not affected casein, the AA milk showed firmer curd than AF milk, suggesting a more favorable repartition of different caseins in AA milk that is worth to be investigated.

References

- De la Torre, G., Ramos Morales, E., Serradilla, J.M. et al. 2009. Journal of Dairy Research. 76, 137-143
 Mahé, M.F., Grosclaude, F. 1993. Sélection Evolution. 25, 403-408.
 Pagano, R.I., Pennisi, P., Valenti, B. et al. 2010. Journal of Dairy Research. 77, 245-251



Effect of diet and CSN1S1 genotype on nutritional, productive and metabolic responses of milking Girgentana goats

Adriana Bonanno^{1*}, Adriana Di Trana², Vincenzo Bellina¹, Gabriele Tornambè¹, Antonino Di Grigoli¹, Massimo Todaro¹, Paola Di Gregorio², Giuseppe Maggio²



¹Dipartimento DEMETRA, settore di Produzioni Animali, Università degli Studi di Palermo, Italy

²Dipartimento di Scienze delle Produzioni Animali (SPA), Università degli Studi della Basilicata, Potenza, Italy

* adriana.bonanno@unipa.it



1. Introduction

Goat polymorphism at α_{s1} -casein locus (CSN1S1), as well as nutrition, influences milk yield and properties.

Goats with strong alleles, associated to high α_{s1} -casein, produced milk higher in fat and casein, and showing longer coagulation time and firmer curds compared to milk from goats with weak alleles linked to low α_{s1} -casein.

Few studies, on interactions of nutrition to goats CSN1S1 genotype, demonstrated that strong alleles are related to a greater efficiency of protein utilization and to a better response to high dietary energy than weak alleles.

2. OBJECTIVE.

In order to further investigate on the interaction nutrition*CSN1S1 genotype in goats, this study aimed to verify the impact of diets, inducing different nutrients intake, on feeding behaviour, milk production, metabolic and hormonal parameters and oxidative stress in Girgentana goats with different CSN1S1 genotype.

3. Materials and methods

Animals. Twelve goats (37.2±3.5 kg LW, 50 or 120 DIM) with same genotype at CSN1S2 (AA), CSN2 (AA) and CSN3 (AA) loci, and differing for the CSN1S1 genotype (G) were used: 6 goats were homozygous for a strong allele (AA) and 6 heterozygous for a weak allele (AF).

Diets. Goats of each genotype were assigned to 3 groups and, according to a 3 x 3 Latin square design with 21-day periods (P), fed *ad libitum* in individual pens with 3 diets (D):

sulla fresh forage (*Hedysarum coronarium* L.) (SFF)

sulla fresh forage + 800 g/d of barley meal (SFB)

mixed hay + 800 g/d of barley meal (MHB)

Measurements and analysis. Milk yield and quality; DM and nutrients intake and digestibility; plasma content of NEFA, glucose, insulin, FT3 and FT4; Reactive Oxygen Metabolites (ROMs), Biological Antioxidant Potential (BAP) and α -tocopherol as markers of oxidative stress.

Statistical analysis. A mixed model with DIM, P, D, G and D*G as fixed effects, and goat as random effect was used. Pre-experimental data were used as covariates. Means were compared by Tukey's test.



5. Considerations

DIET showed a more important effect than CSN1S1 genotype.

SFB diet led to the highest energy intake, DM digestibility (tab.1) and milk yield (tab.2).

Fresh forage diets (SFF, SFB) increased DM and CP intake, CP digestibility (tab.1), milk casein (tab.2), and showed higher protection against oxidative stress than MHB diet (BAP, tab.3).

Energy supplemented diets (SFB, MHB) reduced milk fat and urea, improved the protein utilization for casein synthesis (CN/CP) (tab.2), increased ROMs and contributed to limit the body fat mobilization, indicated by lower NEFA level (tab.3).

4. Results

Table 1. Effects of diet and CSN1S1 genotype on nutrients intake and digestibility

	Diet (D)			Genotype (G)		Significance		
	SFF	SFB	MHB	AA	AF	D	G	D*G
DM intake, g/d	1820 a	1807 a	1655 b	1746	1776	**		
CP intake, g/d	321 A	290 B	203 C	272	270	***		
NDF intake, g/d	632 Aa	483 Bc	539 Bb	535	568	***		
NE _i intake, Mcal/d	2.40 B	3.03 A	2.34 B	2.60	2.58	***		
DM digestibility, %	68.1 B	74.4 A	58.9 C	67.6	66.6	***		**
CP digestibility, %	66.8 A	66.9 A	47.6 B	62.1	56.7	***	*	+

Table 2. Effects of diet and CSN1S1 genotype on milk yield and composition

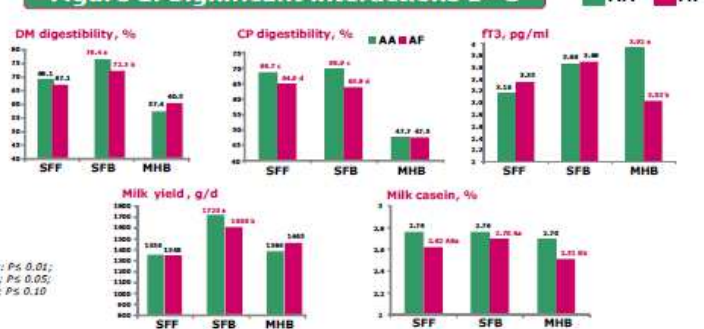
	Diet (D)			Genotype (G)		Significance		
	SFF	SFB	MHB	AA	AF	D	G	D*G
Milk, g/d	1353 Bc	1664 Aa	1423 Bb	1487	1473	***		**
Fat, %	3.59 Aa	3.17 Bb	2.95 Bc	3.17	3.31	***		
Protein (TN*6.38), %	3.54 A	3.52 A	3.38 B	3.49	3.47	***		
Casein, %	2.69 Aa	2.73 Aa	2.61 Bb	2.74	2.61	**		+
Casein/CP intake (CN/CP), g/kg	115 C	164 B	191 A	156	157	***		
Urea, mg/dl	35.4 Aa	32.1 Ab	30.9 Bb	33.8	31.8	***		
Clotting time (t), min	13.8 b	15.0 a	14.9 a	15.2	13.9	*		*
Curd firming time (k ₂₀), min	2.67	2.82	2.65	2.79	2.63			
Curd firmness (a ₂₄), mm	32.2	34.2	30.9	35.9	29.0			***

Table 3. Effects of diet and CSN1S1 genotype on metabolic parameters

	Diet (D)			Genotype (G)		Significance		
	SFF	SFB	MHB	AA	AF	D	G	D*G
NEFA mmol/l	0.39 a	0.21 b	0.23 b	0.27	0.26			**
Glucose mmol/l	50.3	51.7	50.7	51.4	50.3			
Insulin log ng/l	2.29	2.34	2.26	2.27	2.32			
FT3 pg/ml	3.25	3.77	3.48	3.58	3.36			+ *
FT4 ng/dl	0.91	0.98	0.97	0.88	1.02			*
ROMs ln U.Carr	3.90	4.23	4.30	4.23	4.06			+
BAP ln μ mol/l	8.01 a	7.99 a	7.68 b	7.88	7.91			*
α -tocopherol ln μ mol/l	2.53	2.34	2.31	2.35	2.44			

+ P<0.10; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; A, B, C: P<0.01; a, b, c: P<0.05.

Figure 1. Significant interactions D*G



Goats with AA genotype at CSN1S1 loci showed higher CP digestibility (tab.1), higher FT3 and lower FT4 (tab.3) than AF goats. Moreover, AA milk exhibited better clotting properties, due to longer coagulation time and higher curd firmness (tab.2).

Diet*CSN1S1 genotype interactions (fig.1) indicate how AA goats, compared to AF goats, showed higher **DM digestibility** and **milk yield** when fed the more energetic SFB diet, and better **CP digestibility** when fed the more proteic diets (SFF and SFB).

The reduction of milk casein and FT3, occurred in AF goats when fed dry MHB diet, was not observed in AA goats.

These results confirm the higher efficiency of energy and protein utilization of goats with CSN1S1 strong alleles, and demonstrate how these effects are evident already at a digestive level.