



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ  
(ΠΕΓΑ)**

*«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»*

## ΜΟΡΙΑΚΗ ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΑΛΥΣΙΔΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Διδάσκων: Ζήσης Μαμούρης

Στόχος της διάλεξης είναι η εισαγωγή των διδασκομένων στην μοριακή ιχνηλασιμότητα των συστατικών των τροφών στην αλυσίδα παραγωγής τους

Θα αναλυθούν:

Ιχνηλασιμότητα και ταυτοποίηση τροφών

Βιοτεχνολογικές εφαρμογές στην πιστοποίηση παραδοσιακών ζωικών εκτροφών

Παρουσίαση επιλεγμένων εργαστηριακών πρακτικών



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

## ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

*«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»*

## ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

### Η αναγκαιότητα της Ιχνηλασιμότητας

Η ιχνηλασιμότητα ορίζεται ως ένα σύστημα που είναι σε θέση να διατηρήσει ένα αξιόπιστο σύστημα αναγνώρισης για τα ζώα ή τα ζωικά προϊόντα, μέσα από διάφορες δράσεις και στάδια στο πλαίσιο της τροφικής αλυσίδας, από το αγρόκτημα μέχρι το λιανοπωλητή (McKean, 2001). Ειδικότερα, ο όρος αυτός ορίζεται από τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό (ΕΡ) 178 / 2002 ως "η δυνατότητα ανίχνευσης και παρακολούθησης τροφίμων, ζωοτροφών, ζώων που παράγουν τρόφιμα ή των συστατικών, σε όλα τα στάδια της παραγωγής και διανομής". Σύμφωνα με τους τυποποιημένους κανόνες κατά ISO 8402, η ιχνηλασιμότητα ορίζεται ως «η ικανότητα καθιέρωσης της ιστορικής διαδικασίας καταγωγής ενός προϊόντος, ως προς τη χρήση και προέλευση με αναφορά σε γραπτά αρχεία». (ISO, 1994). Ωστόσο, όπως συμβαίνει και με άλλους ορισμούς της ιχνηλασιμότητας, το ISO 8402 δεν ορίζει τις παραμέτρους που θα πρέπει να μετρηθούν ή το πώς το ιστορικό ή η καταγωγή θα πρέπει να προσδιορίζονται. Όπως προτείνεται από τους Golan, Krissof, Kuchler, Nelson, and Price (2004) ένα σύστημα ανιχνευσιμότητας θα μπορούσε να χαρακτηρίζεται από: το εύρος, το βάθος και την ακρίβειά του. Το εύρος εξαρτάται από το ποσό των πληροφοριών που καταγράφονται (π.χ. καθεστώς των ζωοτροφών, γενεαλογικές πληροφορίες ή λεπτομέρειες για την κτηνιατρική φροντίδα του ζώου). Το βάθος συνίσταται από το πόσο μακριά, προς το παρελθόν ή προς το μέλλον, το σύστημα εποπτεύει (σε μια σιταποθήκη, αγρόκτημα ή πεδίο). Σε πολλές περιπτώσεις, το βάθος καθορίζεται από το εύρος ή τα χαρακτηριστικά που μας ενδιαφέρουν. Τέλος, η ακρίβεια είναι ο βαθμός αξιοπιστίας με την οποία το σύστημα μπορεί να εντοπίσει την μετακίνηση ενός συγκεκριμένου προϊόντος, και περιγράφεται με αναφορά σε ένα αποδεκτό ποσοστό σφάλματος.

Τα τελευταία χρόνια το θέμα της ιχνηλασιμότητας αποκτά όλο και μεγαλύτερη σημασία λόγω της αυξανόμενης ανησυχίας των καταναλωτών για θέματα ποιότητας των τροφίμων. Η έλλειψη εμπιστοσύνης των καταναλωτών, ιδίως προς τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, οφείλεται σε διάφορους λόγους που περιλαμβάνουν τόσο την

ασφάλεια των τροφίμων όσο και τις κοινωνικοοικονομικές αλλαγές. Η σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ) σίγουρα υπήρξε το πιο σοβαρό πρόβλημα διατροφικής ασφάλειας τα τελευταία χρόνια, προκαλώντας μια δραστική μείωση της κατανάλωσης βοείου κρέατος σε όλη την Ευρώπη. Στη συνέχεια ακολούθησε η κρίση της διοξίνης και της γρίπης των πτηνών στην πτηνοτροφία (Ciampolini, Levezuel, Mozzanti, Grohs, & Cianci, 2000, Goffaux, China, Dams, Clinquart, & Daube, 2005). Επιπλέον, η συχνότητα εμφάνισης των ασθενειών που μεταδίδονται μέσω των τροφίμων, λόγω μικροβιακής μόλυνσης κατά την επεξεργασία τους, έχει αυξηθεί την τελευταία δεκαετία και προκαλεί πρόσθετη ανησυχία στους αγοραστές (Orara & Mazaud, 2001).

Εκτός από αυτά τα διατροφικά σκάνδαλα, "κοινωνικο-οικονομικοί λόγοι συνέβαλαν επίσης στην αύξηση του ενδιαφέροντος των πολιτών για αυτά που τρώνε και για το πώς και που παράγονται. Για παράδειγμα, αξίζει να σημειωθεί ότι οι κύριοι λόγοι για την αρνητική τάση σχετικά με την κατανάλωση κρέατος, δεν οφείλονται μόνο στις αρνητικές επιπτώσεις των διατροφικών σκανδάλων ως προς τα προϊόντα κρέατος, αλλά και στις νέες διατροφικές συνήθειες της νεότερης γενιάς και την προοδευτική μείωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του κρέατος (Cozzi & Ragno, 2003). Στην πραγματικότητα, για το κόκκινο κρέας, έχει ήδη παρατηρηθεί απώλεια γεύσης και αρώματος, που πιθανόν να σχετίζονται σε κακή αναλογία λίπους ως συστατικό του κρέατος (Kerry & Ledward, 2002). Ομοίως, η μείωση της ενδομυϊκής εναπόθεσης λίπους φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση και στην τρυφερότητα του κρέατος (Seideman, Koochmaraie, & Crouse, 1987). Στις μέρες μας, οι καταναλωτές ευαισθητοποιούνται περισσότερο από ό,τι τα προηγούμενα χρόνια από οικολογικά και περιβαλλοντικά θέματα και η ζήτηση για βιολογικά τρόφιμα και για τα προϊόντα που παράγονται από οικολογικά βιώσιμα συστήματα έχει αυξηθεί (Orara & Mazaud, 2001). Ωστόσο η εκβιομηχάνιση των διεργασιών καθώς και η παγκοσμιοποίηση των αγορών, έχουν καταστήσει δύσκολο, για την πλειονότητα των καταναλωτών, τον έλεγχο των μεθόδων επεξεργασίας τροφίμων (Ajmone-Marsan, Milanesi & Negrini, 2004).

Όλοι αυτοί οι λόγοι συνέβαλαν στην ανάγκη εύρεσης ενός συστήματος για την παρακολούθηση των προϊόντων διατροφής. Η ιχνηλασιμότητα είναι η απάντηση στο αίτημα των καταναλωτών για διαφάνεια και έγινε συνώνυμο με ασφαλή και υψηλής ποιότητας τρόφιμα. Οι αρχές και οι επιστήμονες εξακολουθούν να συζητούν για το πώς το τέλειο σύστημα ιχνηλασιμότητας θα πρέπει να λειτουργεί και αρκετές μελέτες έχουν συγκρίνει την αποτελεσματικότητα των διαφόρων μεθόδων με επίκεντρο την ταυτοποίηση ζώων (Barcos, 2001, Marchant, 2002, Meuwissen, Velthuis, Hogeveen, & Huirne, 2003, Stanford, Stitt, Kellar, & McAllister, 2001). Σύμφωνα με αυτές ένα καλό σύστημα θα πρέπει να είναι βολικό, εύκολο στη χρήση και την ανάγνωση, με διάρκεια, να σέβεται την υγιεινή των ζώων και τη δημόσια υγεία, και να είναι σε θέση να καταπολεμήσει την απάτη. Αρκετές μέθοδοι ταυτοποίησης έχουν μελετηθεί, περιλαμβανομένων διαφόρων ειδών σημάτων όπως του στομαχικού βώλου ή την ανάλυση αμφιβληστροειδούς. Επί του παρόντος οι φορείς χάραξης πολιτικής έχουν εφαρμόσει υποχρεωτικές μεθόδους με βάση τη σήμανση ή τις ετικέτες, όπως περιγράφεται στο επόμενο κεφάλαιο. Ωστόσο, παρόμοιες μεθοδολογίες είναι εύκολες στη χρήση, αλλά συχνά δεν μπορούν να εμποδίσουν την απάτη (Barcos, 2001, Stanford et al., 2001). Στο διάλογο σχετικά με θέματα διατροφικής ασφάλειας και ιχνηλασιμότητας συμμετέχουν όχι μόνο πολιτικοί και επιστήμονες, αλλά και οικονομολόγοι, καθώς η εφαρμογή των συστημάτων ιχνηλασιμότητας, συνδέεται στενά με το κόστος. Η υλοποίηση κάθε είδους συστήματος οδηγεί σε κόστη και οφέλη τόσο για τις βιομηχανίες όσο και για τους καταναλωτές (Meuwissen et al., 2003).

Έτσι, τα θέματα ιχνηλασιμότητας αφορούν πολλές και διαφορετικές πτυχές που δεν συνδέονται μόνο με την ασφάλεια των τροφίμων και των πολιτικών αποφάσεων αλλά αφορούν επίσης και οικονομικές πτυχές καθώς και θέματα συμπεριφοράς των καταναλωτών. Επομένως, η εφαρμογή των συστημάτων αυτών πρέπει να καλύπτει κατ'ανάγκη όλες αυτές τις πτυχές.

### **Η ευρωπαϊκή νομοθεσία για την ανιχνευσιμότητα**

Η διατροφική ασφάλεια υπήρξε πάντα ένας τομέας προτεραιότητας για την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ), πρώτα απ' όλα, διότι ο αγρο-διατροφικός τομέας στο σύνολό του είναι πολύ σημαντικός για την ευρωπαϊκή οικονομία. Η ΕΕ είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός προϊόντων διατροφής και ποτών στον κόσμο (European Commission, 2000) με τις βιομηχανίες του τομέα να παράγουν το 15% της συνολικής βιομηχανικής παραγωγής της ΕΕ, κάτι που αντιστοιχεί σε 600 δισεκατομμύρια ευρώ. Ο δεύτερος λόγος θα μπορούσε να σχετίζεται με τη Συνθήκη της Ρώμης (1957) που ίδρυσε την ΕΕ, όπου έχει καταγραφεί ότι ένας από τους στόχους της ίδρυσης της είναι η επίτευξη «του υψηλού επιπέδου προστασία της υγείας» και «η ενίσχυση της προστασίας των συμφερόντων των καταναλωτών». Έτσι, τα μέτρα ασφάλειας των τροφίμων ήταν πάντα παρόντα στη νομοθεσία της ΕΕ, αλλά, κατά τα τελευταία έτη, ιδίως μετά την εμφάνιση της ΣΕΒ στις αρχές της δεκαετίας του 1960, η νομοθεσία προσαρμόστηκε, προκειμένου να ανταπεξέλθει στους στόχους που αφορούν στην προστασία της υγείας και στην ανάκτηση της εμπιστοσύνης των καταναλωτών.

Τα τρία πιο σημαντικά έγγραφα της ΕΕ σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων είναι η Πράσινη Βίβλος για τις γενικές αρχές της νομοθεσίας περί τροφίμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση (1997), Το Λευκό Βιβλίο για την Ασφάλεια των Τροφίμων (2000) και ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΚ) 178/2002 (που εφαρμόζεται από την 1η Ιανουαρίου 2005). Ειδικότερα, με τον τελευταίο, το σύστημα ιχνηλασιμότητας έχει εισαχθεί στον τομέα των τροφίμων, έστω και αν για τον κλάδο του βοείου κρέατος το εν λόγω σύστημα υπήρχε ήδη χάρη στην ΕΚ 1760/2000 και 1825/2000 που είχαν εκδοθεί σύντομα μετά την κρίση της ΣΕΒ. Η Πράσινη Βίβλος με τις αρχές της νομοθεσίας της ΕΕ σχετικά με τα προϊόντα διατροφής (1997), αποτελείται από έξι μέρη, που αφορούν στις διάφορες πτυχές της ασφάλειας των τροφίμων, όπως: στην ισχύουσα νομοθεσία των χωρών μελών, την ανάγκη απλοποίησης της νομοθεσίας της ΕΕ και, πάνω απ' όλα, την ανάγκη για την εφαρμογή της για την καλύτερη προστασία της υγείας των καταναλωτών.

Η Λευκή Βίβλος για την Ασφάλεια των Τροφίμων (2000), ακολούθησε λίγες χρόνια αργότερα και περιείχε τις στρατηγικές για την επικαιροποίηση της νομοθεσίας.

Μεταξύ των προτάσεων ήταν η δημιουργία μιας ανεξάρτητης Ευρωπαϊκής Διατροφικής Αρχής, η ανάλυση κινδύνου ως το βασικό εργαλείο για τη διατροφική ασφάλεια, η εφαρμογή της αρχής της προφύλαξης, η ανάγκη των ελέγχων στα διατροφικά προϊόντα και η ενημέρωση των καταναλωτών. Επιπλέον, για πρώτη φορά, εισήγαγε την έννοια της ανιχνευσιμότητας των ζωοτροφών και των ζωικών προϊόντων από «το αγρόκτημα στο πιρούνι» και η διαφάνεια ήταν το μοτίβο ολόκληρου του εγγράφου. Η Λευκή Βίβλος ήταν η βάση για τον ER 178/2002 που εφαρμόζεται από την 1η Ιανουαρίου 2005, με αρκετές τροποποιήσεις μέχρι σήμερα. Ο κανονισμός αυτός είχε τονίσει τη σημασία ενός συστήματος ιχνηλασιμότητας δηλώνοντας ότι «η πείρα απέδειξε πως η αδυναμία παρακολούθησης του ίχνους ενός τροφίμου θα μπορούσε να αποτελέσει κίνδυνο για την αγορά του εν λόγω προϊόντος», ενώ ένα σύστημα ιχνηλασιμότητας, το οποίο μπορεί να συγκεντρώσει όλες τις πληροφορίες σχετικά με την παραγωγή ενός προϊόντος, μπορεί να βοηθήσει την αγορά να προβεί στην σε ανάκλησή του σε περίπτωση κινδύνου χωρίς επιζήμιες επιπτώσεις για το σύνολο του τομέα. Έτσι, από το 2005, ο κανονισμός έχει καταστεί υποχρεωτικός για όλες τις χώρες μέλη που θα πρέπει να καθορίσουν ένα σύστημα ιχνηλασιμότητας για το σύνολο του τομέα της διατροφής. Επιπλέον, επιτρέπει να επιτευχθεί μια συμφωνία μεταξύ των διαφόρων κρατών μελών, οι νομοθεσίες των οποίων διέφεραν αρκετά και οδηγούσαν σε προβλήματα σχετικά με την ελεύθερη διακίνηση των τροφίμων μεταξύ τους. Αν και ο ER 178/2002, είναι ο θεμελιώδης νόμος όσον αφορά στην ασφάλεια των τροφίμων, έχει συμπληρωθεί από διάφορους άλλους κανονισμούς. Όλα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία της ύπαρξης ενός συστήματος ιχνηλασιμότητας και την ανάγκη για έλεγχό τους από της αρχής.

Η ΕΕ δεν ήταν η μόνη που εισήγαγε μια τέτοια αυστηρή νομοθεσία για συστήματα ιχνηλασιμότητας για τα τρόφιμα. Στην πραγματικότητα, συστήματα ιχνηλασιμότητας που βασίστηκαν στην ταυτοποίηση ζώων έχουν εφαρμοστεί σε αρκετές χώρες. Στον Καναδά, Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία συστήματα ανίχνευσης προς τα πίσω που βασίστηκαν σε σήμανση εγκαθιδρύθηκαν το 2001, στην Ιαπωνία αυστηροί κανόνες επιβλήθηκαν το ίδιο έτος και στη Βραζιλία και την Αργεντινή, χρησιμοποιούνται συστήματα ιχνηλασιμότητας, έστω και με διαφορετικό βάθος. Στις



Ηνωμένες Πολιτείες (ΗΠΑ), προτάθηκε ένα σύστημα ανίχνευσης αν και αυτό δεν είναι υποχρεωτικό ή δεν παρέχει ολοκληρωμένη πληροφόρηση (Marchant, 2002; Smith et al, 2005). Επιπλέον, τα τελευταία λίγα χρόνια η συζήτηση για τον εντοπισμό και την καταγραφή γενετικώς τροποποιημένων οργανισμών (ΓΤΟ), μεταξύ της ΕΕ και των ΗΠΑ, συνέβαλε στην αύξηση των απαιτήσεων για ανιχνευσιμότητα και διαφάνεια στις τροφικές αλυσίδες.

### **Συμβατική και γεωγραφική ιχνηλασιμότητα**

Τα συστήματα ιχνηλασιμότητας είναι υποχρεωτικά για όλες τις χώρες μέλη της ΕΕ και, όπως περιγράφηκε προηγουμένως, είναι ιδιαίτερως σημαντικά για τα ζώα και τα ζωικά προϊόντα. Οποσδήποτε υπάρχουν διάφοροι τύποι ιχνηλασιμότητας ανάλογα με το πώς επιτεύχθηκαν και με το ποιες πληροφορίες αναμένεται ότι θα προσκομίσουν.

Η λεγόμενη συμβατική ιχνηλασιμότητα συνίσταται στο σύστημα επισήμανσης, όπως στον τομέα του βοείου κρέατος, καθώς και στη διαχείριση των μεταποιημένων τροφίμων μέσω των παρτίδων. Είναι εξαιρετικά χρήσιμη για τη συγκέντρωση επιμέρους πληροφοριών για κάθε ζώο και είναι λιγότερο δαπανηρή και ευκολότερη στη διαχείριση σε σχέση με άλλες μεθόδους. Για παράδειγμα, στον τομέα του βοείου κρέατος, η νομοθεσία απαιτεί την ταυτοποίηση κάθε ζώου με ενώτια με ειδικό κωδικό που δίνεται από τις Κτηνιατρικές Υπηρεσίες, ένα διαβατήριο που συνοδεύει το ζώο σε όλες τις μετακινήσεις του και μια κεντρική βάση δεδομένων που συγκεντρώνει όλες τις πληροφορίες. Ο κωδικός αναγνώρισης πρέπει να διατηρηθεί και μετά τη σφαγή, στο σφάγιο και σε κάθε κομμάτι τεμαχισμένου κρέατος. Όπως αναφέρθηκε η μέθοδος αυτή παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα: τα ειδικά ενώτια είναι αρκετά ανθεκτικά, είναι εύκολη στην εφαρμογή και την ανάγνωση, επιτρέποντας τη γρήγορη μεταφορά και μετάδοση δεδομένων. Είναι επίσης εύκολο να αφαιρεθούν τα ενώτια, ακόμη και αν δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εύκολα και πάλι (Barcos, 2001). Ωστόσο, επειδή οι πληροφορίες βασίζονται σε έγγραφα, αυτές θα μπορούσαν να πλαστογραφηθούν (Cunningham & Meghen, 2001). Παρόλα αυτά, επειδή η Γενική νομοθεσία για τα τρόφιμα, δεν αναφέρεται μόνο στο κρέας, αλλά και σε όλα τα προϊόντα τροφίμων και

ζωοτροφών, αυτό έχει διάφορες συνέπειες για τους παραγωγούς. Στην πραγματικότητα η πηγή όλων των συστατικών θα πρέπει να ανιχνευθεί και οι μεταποιητές πρέπει να είναι σε θέση να αποδείξουν ότι οι προμηθευτές τους μπορούν να παρέχουν επίσης ιχνηλασιμότητα των τροφίμων. Η συμβατική ιχνηλασιμότητα ισχύει για τα πάντα που συμβάλλουν στην ασφάλεια των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων της συσκευασίας, των πωμάτων, των αεροστεγών συσκευασιών, των βάζων κλπ. και καλύπτει όλα όσα συμβαίνουν στα προϊόντα πριν, κατά και μετά την παρασκευή, τη συσκευασία, και της διανομής. Όλες αυτές οι πληροφορίες πρέπει να αποθηκεύονται, με αποτέλεσμα να απαιτείται μια τεράστια συλλογή στοιχείων που πρέπει να είναι ακριβής, εύκολα προσβάσιμη και να διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα (Schwägele, 2005).

Η γεωγραφική ιχνηλασιμότητα αντιθέτως, δεν ενδιαφέρεται για τον εντοπισμό ενός ατόμου ή μιας παρτίδας, αλλά για τη γεωγραφική προέλευση ενός προϊόντος μέσα από τη μελέτη των «στοιχείων ανίχνευσης» όπως οι πτητικές ενώσεις, η μικροβιακή χλωρίδα, τα σταθερά ισότοπα και η υπέρυθρη φασματοσκοπία (Franke, Gremaud, Hadorn, & Kreuzer, 2005; Mauriello, Moio, Genovese, & Ercolini, 2003; Pillonel et al, 2003; Schwägele, 2005). Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τυπικά τοπικά προϊόντα διατροφής, που επισημαίνονται με την ένδειξη Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης (ΠΟΠ) ή Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ), οι Ευρωπαϊκές ετικέτες που χρησιμοποιούνται για παράγωγα τροφίμων των οποίων η επεξεργασία και παρασκευή έγινε σε μια δεδομένη γεωγραφική περιοχή, με τη χρήση αναγνωρισμένης μεθοδολογίας για την πρώτη ετικέτα και για τα προϊόντα των οποίων η γεωγραφική σύνδεση πρέπει να καλύπτει μόνο ένα στάδιο της παραγωγής για τη δεύτερη ετικέτα. Στην Ευρώπη και παγκοσμίως, η Ιταλία είναι ηγέτης σε αυτές τις παραγωγές με 145 ετικέτες μεταξύ των ΠΟΠ και ΠΓΕ και ακολουθείται από τη Γαλλία, Πορτογαλία, την Ισπανία και την Ελλάδα. Λαμβάνοντας υπόψη τις οικονομικές αξίες, οι οποίες αντιπροσωπεύουν έναν ενδιαφέροντα τρόπο για την ανάπτυξη των συστημάτων εκτροφής ζώων, που βρίσκονται σε λιγότερο ανταγωνιστικές περιοχές, και ενσωματώνει τυπικές προστιθέμενες αξίες όπως η παράδοση και η υψηλή ποιότητα,

είναι εύκολο να καταλάβουμε γιατί οι ερευνητές εστιάζονται σε θέματα σχετικά με τη γεωγραφική ιχνηλασιμότητα.

### **Γενετική ιχνηλασιμότητα**

Η γενετική ιχνηλασιμότητα, όπως δηλώνει και το όνομα της, βασίζεται στον προσδιορισμό τόσο των ζώων όσο και των προϊόντων τους μέσα από τη μελέτη του DNA. Στην πραγματικότητα, το μόριο του DNA έχει το χαρακτηριστικό να είναι εξαιρετικά πολυμορφικό μεταξύ των ατόμων (με εξαίρεση τους μονοζυγωτικούς διδύμους και τους κλώνους), επιτρέποντας τη διάκριση μεταξύ τους (Mackie et al, 1999, Cunningham & Meghen, 2001). Άλλα σημαντικά χαρακτηριστικά που διαθέτει το DNA είναι ότι: (α) παραμένει αναλλοίωτο κατά τη διάρκεια της ζωής των ζώων, (β) παραμένει σχετικά σταθερό μετά από διάφορες επεξεργασίες των μεταποιημένων τροφίμων, (γ) υπάρχει σε κάθε κύτταρο του οργανισμού. Από τη στιγμή που το DNA εξάγεται από το επιλεγμένο σύστημα (αυτό μπορεί να είναι ζωικοί ιστοί όπως αίμα, μυς, τρίχωμα, σπέρμα, κόπρανα ή ακόμη και επεξεργασμένα τρόφιμα όπως το τυρί ή κονσερβοποιημένα κρέατα) αναλύεται με τη χρήση μοριακών δεικτών, ώστε να προκύψει ένα «γενετικό δακτυλικό αποτύπωμα» ή συγκεκριμένες συχνότητες αλληλομόρφων που επιτρέπουν την ταυτοποίηση ατόμου, φυλής ή είδους. Μετά την εισαγωγή της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), το 1989, πολλοί διαφορετικοί δείκτες έχουν ανακαλυφθεί και μελετηθεί. Προς το παρόν, οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι είναι οι μικροδορυφόροι, επίσης γνωστοί και ως βραχείς εν σειρά επαναλήψεις (STR) και ο πολυμορφισμός μοναδικού νουκλεοτιδίου (SNP) (Mariani et al. 2005). Όπως έχει ήδη αναφερθεί η ανάλυση του DNA προσκομίζει διαφορετικά επίπεδα εξακρίβωσης της ταυτότητας: αυτό του ατόμου παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για την εξακρίβωση της προέλευσης του κρέατος και συνδέεται αυστηρά με την διατροφική ασφάλεια, ενώ η διάκριση της φυλής και του είδους παρουσιάζουν ενδιαφέρον για την ανίχνευση και εντοπισμό της απάτης και την προστασία και προστιθέμενη αξία παραδοσιακών προϊόντων. Η χρήση αυτών των τεχνολογιών στα ζώα και στα διατροφικά προϊόντα τους είναι απλά μια επέκταση των τεχνικών που

χρησιμοποιούνται ήδη και εφαρμόζονται κατά κόρον στην ιατροδικαστική εξέταση μεμονωμένων υποθέσεων (Cunningham & Meghen, 2001).

#### *Ατομική γενετική ιχνηλασιμότητα*

Η ατομική αναγνώριση των ζώων είναι χρήσιμη για την προστασία της υγείας των ζώων και του κοινού και την παράδοση ασφαλών προϊόντων τόσο για εγχώρια όσο και εξαγωγική κατανάλωση. Επιπλέον, τα εθνικά προγράμματα παρακολούθησης και εκρίζωσης ασθενειών εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ορθή ταυτοποίηση των ζώων (Cunningham & Meghen, 2001). Όμως, μετά από την εμφάνιση της νόσου της ΣΕΒ στην ΕΕ και του αφθώδους πυρετού στο Ηνωμένο Βασίλειο, τα συστήματα ανίχνευσης έχουν καταστεί θέμα διεθνούς ενδιαφέροντος (Barcos, 2001; Stanford et al., 2001). Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο τομέας του βοείου κρέατος υπέστη ήδη μια σοβαρή κρίση μετά από το ξέσπασμα της ΣΕΒ, και, έκτοτε, οι καταναλωτές ανησυχούν για την ποιότητα του κρέατος, την προέλευσή του και την ακεραιότητα όλων από την τροφική αλυσίδα μέχρι την κατανάλωση. Κατά συνέπεια, η ΕΕ έχει ρυθμίσει το σύστημα σήμανσης του βοείου κρέατος με την ER 1825/2000 (Arana, Soret, Lasa & Alfonso, 2002), που ουσιαστικά βασίζεται σε έντυπα έγγραφα και ετικέτες. Η ταυτοποίηση του DNA έχει προταθεί ως μελλοντική εφαρμογή ως μέθοδος ατομικής αναγνώρισης λόγω της ακρίβειας, της ανθεκτικότητας και της δυνατότητας της να υπερνικήσει τα όρια των συμβατικών συστημάτων ιχνηλασιμότητας. Μελέτες έχουν διεξαχθεί σε πολλές και διαφορετικές φυλές βοοειδών. Στόχος ήταν η αξιολόγηση μιας ομάδας μοριακών δεικτών για το αν είναι σε θέση να διακρίνουν ένα άτομο από ένα άλλο. Για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας του πάνελ υπολογίζεται η λεγόμενη πιθανότητα ταιριάσματος (MP). Αυτή ορίζεται ως η πιθανότητα να βρεθούν, κατά τύχη, δύο άτομα που να μοιράζονται το ίδιο γενετικό προφίλ στους υπό μελέτη γενετικούς τόπους (Weir, 1996). Για παράδειγμα, αν η συχνότητα όλων των αλληλόμορφων που ανιχνεύτηκαν σε όλα τα γονίδια που αναλύθηκαν είναι η ίδια και ισούται με 0,25 η αθροιστική πιθανότητα (%) του ταιριάσματος είναι  $0,125^n \times 100$ , όπου  $n$  είναι ο αριθμός των γενετικών τόπων.

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες είναι οι μικροδορυφόροι (Peelman et al, 1998, Sancristobal-Gaudy et al, 2000, Arana et al, 2002, Vázquez et al, 2004, Herraеза, Schafer, Mosner, Fries, & Wink, 2005, Dalvit et al, 2006, Orrù, Napolitano, Catillo, & Moiolì, 2006) και πιο πρόσφατα οι SNP (Heaton et al, 2002, Heaton et al, 2005, Herraеза et al, 2005). Οι έρευνες αποκαλύπτουν την αποτελεσματικότητα και των δύο δεικτών ως προς την ατομική ιχνηλασιμότητα με διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με το είδος, τον αριθμό και το επίπεδο του πολυμορφισμού των επιλεγμένων δεικτών. Στα πειράματα αυτά, όπου επιτυγχάνονται τιμές MP υψηλότερες από το ένα στο εκατομμύριο αποδεικνύεται μια καλή διακριτική ικανότητα της μεθόδου. Ωστόσο, για να επιλεγεί ποια είναι η καλύτερη διακριτική ικανότητα MP θα πρέπει να συνυπολογιστεί και το όριο στο μέγεθος του πληθυσμού που εξετάζεται. Για ένα πληθυσμό 4.000 ζώων τιμές MP της τάξεως του  $10^{-6}$  είναι επαρκής, αλλά εάν πρόκειται για πολλά εκατομμύρια εκτρεφόμενων ζώων μια τέτοια τιμή ίσως να μην εξασφαλίζει ένα καλό επίπεδο διακριτικής ικανότητας.

Αξίζει επίσης να σημειωθεί μια σημαντική πτυχή κατά την επιλογή των δεικτών και των φυλών προς ανάλυση. Ο Orrù και οι συνεργάτες του (2006) στη μελέτη τους σε τέσσερις φυλές βοοειδών παρατήρησε ότι το περιεχόμενο της πληροφορίας για κάθε μικροδορυφορικό δείκτη κυμαίνονταν από τη μια φυλή στην άλλη, ανάλογα με τις τυπικές συχνότητες αλληλόμορφων της κάθε φυλής και την παρουσία των μοναδικών αλληλομόρφων (αλληλόμορφα που είναι πάντα παρόντα σε μία φυλή και πάντα απόντα στις υπόλοιπες). Επομένως, κατά την εφαρμογή ενός συστήματος ιχνηλασιμότητας θα πρέπει να επιλεγούν διαφορετικές ομάδες ζώων για κάθε φυλή, ή για τον περιορισμό του κόστους, να επιλεγεί μια ομάδα που θα επιτρέψει την επίτευξη αποτελεσματικής ατομικής ταυτοποίησης σε όλες τις φυλές. Και στις δύο περιπτώσεις απαιτούνται προκαταρκτικές αναλύσεις για όλες τις φυλές, για τον προσδιορισμό της γενετικής δομής του κάθε πληθυσμού.

Οι προαναφερόμενες μελέτες αφορούν στην ταυτοποίηση ενός μόνο νωπού τεμαχίου κρέατος. Θα πρέπει ωστόσο να εξασφαλίζεται και η ανιχνευσιμότητα των μεμονωμένων ζώων σε μείγματα, λαμβάνοντας υπόψη ότι ο κιμάς, τα λουκάνικα και

γενικότερα τα επεξεργασμένα προϊόντα με βάση το κρέας παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο για την υγεία από ότι τα σφάγια και τα νωπά κρέατα (Bargos, 2001). Για το σκοπό αυτό οι έρευνες εστιάστηκαν στη δυνατότητα χρήσης μικροδορυφορικών δεικτών για τον εντοπισμό μεμονωμένων ζώων σε μείγματα επεξεργασμένων τροφών (π.χ. μοσχαρίσιο κιμά) (Shackell, Mathias, Cave, and Dodds, 2005). Μικροδορυφορικοί δείκτες χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση δειγμάτων που περιέχουν μείγμα από διάφορα άτομα. Στην περίπτωση αυτή ωστόσο, ήταν αδύνατο, ελέγχοντας απλώς τα ηλεκτροφαινογράμματα, μετά από την ανάλυση των ζωνών, να διακριθούν τα πραγματικά αλληλόμορφα από τον «θόρυβο» που προκαλείται από τμήματα του DNA που ενισχύονται αλλά δεν αντιστοιχούν σε αλληλόμορφα. Έτσι, αντί να προσδιοριστούν αλληλόμορφα, δημιουργήθηκε ένα DNA πρότυπο για κάθε δείκτη, με αποτέλεσμα να επιτευχθεί ένα καλό ποσοστό διαχωρισμού και ταυτοποίησης ατόμων (έως και πέντε διαφορετικά ζώα) που ήταν αναμειγμένα στα μείγματα κρεάτων, αν και κατά την εξέταση περισσότερων ατόμων τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά. Έτσι, η τεχνική αυτή θα μπορούσε να είναι το κατάλληλο εργαλείο για να εξακριβωθεί, για παράδειγμα, ότι η σωστή παρτίδα έχει ανακληθεί σε περίπτωση προβλήματος.

Αν και ο τομέας του βοείου κρέατος είναι προφανώς ο πιο άμεσα εμπλεκόμενος οι Goffaux et al. (2005) τόνισαν ότι ένα τέτοιο σύστημα θα μπορούσε να εφαρμόζεται στο Βέλγιο και για τους χοίρους, όπου η ιχνηλασιμότητα σταματά στο σφαγείο, γεγονός που καθιστά αδύνατη τη σύνδεση των τμημάτων του κρέατος με ένα συγκεκριμένο ζώο. Πρότειναν τη χρήση των 21 SNP δεικτών δίνοντας μια τιμή MP της τάξεως του  $7 \times 10^{-9}$ . Η τιμή αυτή θεωρήθηκε αρκούντως σημαντική δεδομένου ότι ο συνολικός πληθυσμός χοίρων του Βελγίου είναι περίπου  $7 \times 10^6$ .

Συμπερασματικά, η αποτελεσματική γενετική ανιχνευσιμότητα κρέατος σε επίπεδο ατόμου είναι εφικτή, αντιμετωπίζει όμως δύο προβλήματα: το υψηλό κόστος των αναλύσεων και τη διαχείριση των μεμονωμένων δειγμάτων που συλλέγονται. Το δεύτερο είναι ιδιαίτερα λεπτό. Εάν η έρευνα θα μπορούσε να καθορίσει τους καταλληλότερους δείκτες, μειώνοντας τον αριθμό τους και κατά συνέπεια το κόστος, μια νέα οργάνωση της αλυσίδας του βοείου κρέατος είναι απαραίτητη. Θα μπορούσε

να γίνει δειγματοληψία στο σύνολο των ζώων σε κάθε κράτος, ενδεχομένως από τις Κτηνιατρικές Υπηρεσίες, τη στιγμή που εφαρμόζονται τα ενώτια, και τα δείγματα πρέπει να διατηρηθούν για να αναλύονται σε περίπτωση ανάγκης. Αυτό θα οδηγήσει αναγκαστικά στη δημιουργία «τραπεζών», στις οποίες τα δείγματα, όπως π.χ. τρίχες, θα μπορούσαν να αποθηκευτούν εύκολα. Όπως προτείνεται από τους Cunningham και Meghen (2001) αναλύσεις του DNA θα είναι αναγκαίες μόνο σε μερικές περιπτώσεις, για συγκεκριμένες υποθέσεις και σε τυχαία βάση. Το σύστημα έχει ήδη τεθεί σε εφαρμογή από μία Ιρλανδική αλυσίδα σούπερ μάρκετ. Επιπλέον, όπως προτείνεται από τον Barcos (2001) η εναρμόνιση και η τυποποίηση των επιμέρους συστημάτων ατομικής ιχνηλασιμότητας σε όλες τις χώρες θα ήταν σκόπιμη, καθώς η παγκοσμιοποίηση της εμπορίας ζώων και ζωικών προϊόντων έχει αυξηθεί και πρέπει να εξασφαλίζεται η δημόσια υγείας. Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένες ευρωπαϊκές κυβερνήσεις εξετάζουν ήδη αυτή τη δυνατότητα (Cunningham & Meghen, 2001).

#### *Γενετική ιχνηλασιμότητα Φυλής*

Η γενετική ιχνηλασιμότητα Φυλής επιτρέπει τον προσδιορισμό ή τον αποκλεισμό μιας φυλής από την οποία προέρχεται ένα προϊόν. Η ικανότητα αυτή είναι όλο και πιο σημαντική καθώς σήμερα πολλά τυπικά προϊόντα, μερικά από τα οποία προστατεύονται από τις Ευρωπαϊκές ετικέτες ΠΟΠ ή ΠΓΕ, παρασκευάζονται από μία μόνο φυλή, ή δεν μπορούν να παρασκευαστούν από ορισμένες φυλές. Παραδείγματα είναι το Ιταλικό τυρί ΠΟΠ Parmigiano Reggiano «Vacche Rosse» που παράγεται μόνο με το γάλα που προέρχεται από τις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής Reggiana (Gandini & Oldenbroek, 1999), ενώ για τη βιομηχανία κρέατος τόσο η Ιταλία όσο και η Ισπανία έλαβαν την ετικέτα ΠΓΕ για το βόειο κρέας που προέρχεται από διάφορες αυτόχθονες φυλές όπως: Chianina, Marchigiana, Romagnola, Podolica και Maremmana για την Ιταλία και Pirenaica για Ισπανία (Arana et al., 2002). Δεν είναι μόνο φυλές βοοειδών, ωστόσο, που εμπλέκονται στην παραγωγή αυτή, το ισπανικό ζαμπόν ΠΟΠ Jamon Iberico, που παρασκευάζεται μόνο από τις φυλές χοίρων Iberian (García et al., 2006) είναι ένα καλό παράδειγμα. Ο κατάλογος θα μπορούσε να είναι μακροσκελής και στην

ουσία αποτελείται από χαρακτηριστικά προϊόντα της Μεσογείου από χώρες όπως η Γαλλία, η Ιταλία και η Ισπανία (Pancaldi et al. 2005) και ως εκ τούτου οι περισσότερες από τις μελέτες πραγματοποιούνται στις χώρες αυτές. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι τα εν λόγω προϊόντα είναι συνήθως πολύ παλιά και η διατήρησή τους συμβάλει επίσης και στην προστασία των παραδόσεων και του πολιτισμού. Οι αγέλες των χρησιμοποιούμενων φυλών είναι συχνά μικρές και απειλούνται με εξαφάνιση, και η μοναδική ευκαιρία τους για επιβίωση είναι η χρησιμοποίησή τους για την παραγωγή παραδοσιακών προϊόντων υψηλής ποιότητας. Ωστόσο, η έρευνα σχετικά με τη γενετική ιχνηλασιμότητα της φυλής συνδέεται συχνά με μελέτες σχετικά με το χαρακτηρισμό της φυλής (Carrión et al, 2003, Ciampolini et al, 2000, De Marchi, Targhetta, Contiero, & Cassandro, 2003, Maudet, Luikart, & Taberlet, 2002, Óvilo, Cervera, Castellanos & Martínez-Zapater, 2000) και, μερικές φορές, επίσης, με τη διατήρηση της φυλής, μέσω της χρήσης μοριακών δεικτών (Alderson & Plastow, 2004, De Marchi, Dalvit, Targhetta, & Cassandro, 2006). Εάν η ατομική ιχνηλασιμότητα αποτελεί ένα μέσο για τη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων, η ιχνηλασιμότητα της φυλής είναι το μέσο υπεράσπισης και ανάδειξης των προϊόντων διατροφής.

Για να αντιστοιχηθεί ένα άτομο ή ένα προϊόν σε μια φυλή δύο προσεγγίσεις είναι δυνατές, όπως αναφέρθηκε από τους Ajmone-Marsan et al. (2004) (α) η ντετερμινιστική: συνίσταται στην εύρεση μοριακών δεικτών με διάφορες παραλλαγές αλληλομόρφων, οι οποίες θα είναι μοναδικές και καθηλωμένες (δηλ. θα εμφανίζονται με συχνότητα 1) στις διαφορετικές φυλές, αν και θα είναι δυνατό να αναπτυχθούν απλά αναλυτικά πρωτοκόλλα χωρίς την ανάγκη στατιστικής για την εξαγωγή συμπερασμάτων, (β) η πιθανολογική: βασίζεται στην αξιοποίηση ενός συνόλου δεικτών με τυπικές συχνότητες αλληλομόρφων για διαφορετικές φυλές. Η αντιστοίχιση σε μια φυλή επιτυγχάνεται με στατιστικές μεθόδους που βασίζονται στη μέγιστη πιθανότητα (maximum likelihood) (Paetkau, Clivert, Stirling, & Strobeck, 1995), στη Μπεϋζιανή θεωρία (Rannala & Mountain, 1997) και στις γενετικές αποστάσεις (Cornuet, Piry, Luikart, Estoup & Solignac, 1999).



## Πίνακας 1

Γονίδια που κωδικοποιούν για το χρώμα του τριχώματος από τους Searle (1968) και Olson (1999)

Τόπος	Σύμβολο	Λειτουργία (Εμπλοκή)	Κωδικοποιόν Μόριο	Αποτελέσματα
Extension	E	Στη ρύθμιση της μελανογένεσης	melanocortin receptor1 (MC1R)	Ελέγχει την αναλογία των δύο τύπων μελανίνης
Agouti	A	Στη ρύθμιση της μελανογένεσης	agouti signalling protein (ASIP)	Ελέγχει την αναλογία των δύο τύπων μελανίνης
Spotted or White Spotting	S W	Στην ανάπτυξη των μελανοκυττάρων και τη μετανάστευση τους κατά την εμβρυογένεση	KIT	Επηρεάζει την έκταση της κηλίδωσης και την ένταση χρωματισμού
Roan	R	Στην ανάπτυξη των μελανοκυττάρων και τη μετανάστευση τους κατά την εμβρυογένεση	mast cell growth factor (MGF)	Προσδιορίζει το στικτό χρώμα στις φυλές Shorthorn και Blue Belgian
Slaty		Στη βιοσύνθεση μελανίνης	Tyrosinase-related protein 2 (TYRP2)	Ελέγχει τη διάχυση στο χρώμα του τριχώματος
Albino	C	Στη βιοσύνθεση μελανίνης	tyrosinase (TYR)	Ελέγχει τη διάχυση στο χρώμα του τριχώματος
Brown	B	Στη βιοσύνθεση μελανίνης	tyrosinase-related protein 1 (TYRP1)	Ελέγχει τη διάχυση στο χρώμα του τριχώματος προσδιορίζοντας το καφέ χρώμα
Dilute	D	Στη μορφολογία των μελανοκυττάρων	myosin type V (MYO5A)	Ελέγχει τη διάχυση στο χρώμα του τριχώματος
Silver	PMEL17	Στη δομή και λειτουργία των μελανοκυττάρων	transmembrane melanosome protein	Προσδιορίζει το γκρι χρώμα τριχώματος

### Η Ντετερμινιστική προσέγγιση

Τα τελευταία χρόνια, οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί σε δύο προσεγγίσεις. Η ντετερμινιστική προσέγγιση βασίζεται κυρίως στη μελέτη των γονιδίων που κωδικοποιούν για το χρώμα του τριχώματος, ο κύριος χαρακτήρας που επιτρέπει τη διαφοροποίηση στις ευρωπαϊκές φυλές βοοειδών και βρίσκεται κάτω υπό ανθρώπινη επιλογή (Maudet & Taberlet, 2002). Ο Πίνακας 1 δείχνει μια ταξινόμηση των πιο

σημαντικών γονιδιακών τόπων που εντοπίστηκαν και βασίζονται σε γνωστές λειτουργίες που κωδικοποιούν για το χρώμα του τριχώματος. Το ενδιαφέρον για αυτές τις μελέτες επικεντρώνεται κυρίως στη δυνατότητα να προσδιορίζουν τη φυλή από την οποία προέρχεται το τυρί, στον εντοπισμό μοριακών δεικτών που είναι ειδικοί για κάθε φυλή αγελάδας και στην ανάπτυξη τεχνικών για την ανίχνευση αυτών των δεικτών σε τυρί (μείγμα γάλακτος από διάφορα άτομα). Στα βοοειδή, ο χρωματισμός καθορίζεται από την κατανομή δύο χρωστικών ουσιών: την ευμελανίνη και την φαιομελανίνη, που παράγουν καφέ ή μαύρο και κόκκινο έως κίτρινο χρωματισμό, αντίστοιχα. Η τυροσίναση είναι το ένζυμο που εμπλέκεται στη σύνθεση και των δύο μελανινών και ρυθμίζεται από την ορμόνη (MSH) που διεγείρεται από τα μελανοκύτταρα. Αυτή η ορμόνη και αρκετά άλλα μελανοτροπικά πεπτίδια διεγείρουν τον σχηματισμό μελανίνης στα μελανοκύτταρα με τη δέσμευση στον μελανοκορτίνης-1-υποδοχέα (MC1R), ενός υποδοχέα που κωδικοποιείται από το γονίδιο *Extension* (Robbins et al., 1993). Επιπλέον, η ποσότητα της ευμελανίνης και της φαιομελανίνης, στα μελανοκύτταρα ελέγχεται από το *agouti* γονίδιο που κωδικοποιεί την Πρωτεΐνη Σήματος *Agouti* (*Agouti Signal Protein (ASP)*), που δρα ως ανταγωνιστής της σηματοδότησης MSH μέσω του MC1R, έστω και αν ο μηχανισμός δράσης της είναι αμφιλεγόμενος (Furumura et al., 1998). Το γονίδιο MC1R έχει αναλυθεί σε διάφορα είδη (Crepaldi, Fornarelli, & Marilli, 2005). Σε πληθυσμούς βοοειδών έχουν παρατηρηθεί πολλές μεταλλάξεις και έχουν ανιχνευθεί τρεις βασικά αλληλόμορφα (Klungland, Vage, Gomez-Raya, Adalsteinsson & Lien, 1995): το E+ λεγόμενο και «άγριου τύπου» που κωδικοποιεί τον κανονικό λειτουργικό υποδοχέα, το κυρίαρχο E<sub>D</sub> που προκαλείται από μία υποκατάσταση T/C, η οποία τροποποιεί το αμινοξύ στην 99η θέση σε προλίνη με επακόλουθο υψηλό επίπεδο ευμελανίνης και το e που περιέχει ένα G-έλλειμμα, το οποίο δημιουργεί ένα μη λειτουργικό υποδοχέα που καταλήγει στην παραγωγή φαιομελανίνης και δίνει κόκκινο χρώμα σε ομοζυγωτία. Επιπλέον, τέσσερα άλλα αλληλόμορφα έχουν εντοπιστεί: οι Rouzaud et al. (2000) και οι Maudet και Taberlet (2002) ανακάλυψαν ένα νέο αλληλόμορφο που ονομάζεται E1 στις φυλές Aubrac, Gasconne και Tarentaise σε μια μελέτη με αντικείμενο διαφορετικές Γαλλικές

φυλές αγελάδων, ενώ οι Graphodatskaya, Joerg, και Stranzinger (2002) εντόπισαν δύο νέα αλληλόμορφα ( $E^{d1}$  και  $E^{d2}$ ) στη φυλή Brown Swiss και ένα στη φυλή Simmental ( $e^f$ ). Ο πίνακας 2 δείχνει τους πολυμορφισμούς που ανιχνεύτηκαν σε διάφορες φυλές βοοειδών. Μελέτες έχουν διεξαχθεί, επίσης, για βοείες φυλές. Στην πραγματικότητα, ο τομέας του βοείου κρέατος αντιμετωπίζει επίσης εμπορικά προβλήματα ως προς την αναγνώριση και την προστασία κρέατος υψηλής ποιότητας που προέρχεται από εξειδικευμένες φυλές, με αποτέλεσμα οικονομικές απώλειες για τους αγρότες (Ciampolini et al., 2000). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε όλες τις ιταλικές φυλές βοείων που αναλύθηκαν (Chianina, Marchigiana, Piemontese και Maremmana) μια νέα μετάλλαξη έχει εντοπιστεί που προκύπτει από την υποκατάσταση μιας βάσης (C/T) στη θέση 667 bp, με αποτέλεσμα την αλλαγή ενός αμινοξέος (Arg σε Trp) (Maudet & Taberlet, 2002). Οι Crepaldi, Marilli, Gorni, Meggiolaro και Cicogna σε μια παρόμοια μελέτη επιβεβαίωσαν την παρουσία μιας τέτοιας μετάλλαξης στα δείγματα τους.

Αυτά τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για τη δημιουργία μιας μεθόδου ιχνηλασιμότητας που θα βασίζεται στους δείκτες του χρώματος του τριχώματος, προσφέροντας τη δυνατότητα διάκρισης μεταξύ ορισμένων φυλών. Συμπληρωματικές μελέτες και για άλλα γονίδια του χρώματος του τριχώματος είναι απαραίτητες για να ολοκληρωθεί η πληροφορία και να αυξηθεί η διακριτική ικανότητα των εν λόγω δεικτών. Αναλύσεις για τον εντοπισμό γονιδίων της κηλίδωσης, που επηρεάζουν την επέκταση των κηλίδων του χρώματος του τριχώματος, για παράδειγμα, θα μπορούσαν να συμπληρώσουν και να βελτιώσουν την πληροφορία που προέρχεται από αλληλόμορφα extension. Ωστόσο, μελέτες για τα γονίδια του χρώματος του τριχώματος χρησιμοποιούνται

## Πίνακας 2

Πολυμορφισμοί του τόπου σε φυλές βοοειδών

Αλληλόμορφο	Φυλή	Προέλευση	Αναφορές
$E^D$	Italian, French and Finnish Holstein Friesian, Vosgienne, Jutland Breed, Danish Black-Pied, Northern Finncattle, Western Finncattle, Icelandic Cattle, Blacksided Troender	Ιταλία, Γαλλία Δανία, Φιλανδία,	Kantanen et al. (2000), Rouzaud et al. (2000), Maudet and Taberlet (2002), Russo

	and Norland Cattle, Western Fjord cattle, Doela Cattle, Norwegian Cattle, Swedish Mountain Cattle, Swedish Black and White	Σουηδία, Ισλανδία, Νορβηγία	and Fontanesi (2004) and Crepaldi et al. (2003)
e	Italian, French and Finnish Holstein Friesian, Italian and French Simmental, Brown Swiss, Reggiana, Chianina, Romagnola, Limousine, Blonde d'Aquitaine, Charolais, Salers, Abondance, Montbéliarde, Maine Anjou, Villard de Lans, Danish Shorthorn, Red Danish, Western Finncattle, Eastern Finncattle, Finnish Ayrshire, Icelandic Cattle, Black-sided Troender and Norland Cattle, Western Fjord cattle, Doela Cattle, Eastern Red Polled, Telemark Cattle, Western Red Polled, Norwegian Cattle, Swedish Mountain Cattle, Swedish Red Polled Cattle, Swedish Red and White	Ιταλία, Γαλλία Δανία, Φιλανδία, Σουηδία, Ισλανδία, Νορβηγία, Ελβετία	Kantanen et al. (2000), Rouzaud et al. (2000), Graphodatskaya et al. (2002), Maudet and Taberlet (2002), Crepaldi et al. (2003) and Russo and Fontanesi (2004)
E <sup>+</sup>	Chianina, Marchigiana, Piemontese, Romagnola, Cabannina, Rendena, Aubrac, Gasconne, Normande, Tarentaise, Blanc Bleu, Danish Jersey, Jutlan Breed, Eastern and Western Finncattle, Icelandic Cattle, Black-sided Troender and Norland Cattle, Western Fjord cattle, Doela Cattle, Western Red Polled, Swedish Mountain Cattle	Ιταλία, Γαλλία Δανία, Φιλανδία, Σουηδία, Ισλανδία, Νορβηγία	Kantanen et al. (2000), Rouzaud et al. (2000), Maudet and Taberlet (2002), Crepaldi et al. (2003)
E <sup>1</sup>	Aubrac, Gasconne, Tarentaise	Γαλλία	Rouzaud et al. (2000), Maudet & Taberlet (2002)
E <sup>d1</sup> , E <sup>d2</sup>	Brown Swiss	Ελβετία	Graphodatskaya et al. (2002)
e <sup>f</sup>	Italian and French Simmental	Ιταλία, Γαλλία	Graphodatskaya et al. (2002)
Unknown	Chianina, Marchigiana, Piemontese, Maremmana, Valdostana Pezzata Rossa, Flamande	Ιταλία, Γαλλία	Maudet & Taberlet (2002), Crepaldi et al. (2003)

επίσης και για την αξιολόγηση της γενετικής ποικιλομορφίας για τη διατήρηση των παραδοσιακών τύπων χρώματος προκειμένου να διατηρηθούν πολιτιστικής και ιστορικής αξίας αυτόχθονες φυλές που απειλούνται με εξαφάνιση (Kantanen et al., 2000). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το βόειο κρέας δεν είναι οι μόνοι τομείς που εμπλέκονται στην ανάλυση γενετικών συστημάτων ιχνηλασιμότητας. Όλο και περισσότερες μελέτες διεξάγονται και στον τομέα της χοιροτροφίας. Στην πραγματικότητα οι διαφορετικές φυλές χοίρων έχουν αναπτυχθεί για να

ικανοποιήσουν τις ιδιαίτερες απαιτήσεις της αγοράς. Στο Ηνωμένο Βασίλειο (UK), για παράδειγμα, οι φυλές Large White και Landrace επιλέχθηκαν για την παραγωγή μπέικον ενώ η Berkshire για το χοιρινό κρέας. Από την άλλη πλευρά η ισπανική αγορά αποσκοπεί στην αξιοποίηση και την προστασία ζαμπόν που παράγεται από χοιρινό φυλών της Ιβηρικής οι οποίες επιλέγονται για υπαίθρια εκτροφή και παραγωγή ειδικών ζαμπόν (Alderson & Plastow, 2004, Carrión et al., 2003). Σε αμφότερες τις περιπτώσεις η ικανότητα διαφοροποίησης της φυλής είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την προστασία των τυπικών ποιοτικών προϊόντων. Στο Ηνωμένο Βασίλειο έχουν γίνει προσπάθειες να ταυτοποιηθούν και να διαχωριστούν οι φυλές Berkshire και Tamworth μέσω της χρήσης των πολυμορφισμών MC1R και KIT οι οποίοι ελέγχουν μεγάλο μέρος της ποικιλότητας του χρώματος στο τρίχωμα των χοίρων. Τέτοια εργαλεία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μέρος ευρύτερων συστημάτων διασφάλισης της ποιότητας για το σύστημα εμπορίας κρεάτων Παραδοσιακών Φυλών, όπως έχει ήδη συμβεί με την Ένωση Βρετανικού Αγριόχοιρου (Alderson & Plastow, 2004; Carrión et al., 2003). Πράγματι, στην περίπτωση των αγριόχοιρων ο διαχωρισμός είναι εύκολος, λόγω μιας παραλλαγής του MC1R γονιδιακού τύπου, ή οποία δεν παρατηρείται στους οικόσιτους χοίρους. Αντιθέτως, η διαφοροποίηση των Tamworth και Berkshire απαιτεί την ανάλυση τόσο του MC1R όσο και του KIT γονιδιακών τύπων, όπως αναφέρθηκε από τους Alderson και Plastow (2004).

Η ισπανική αγορά έχει ως στόχο την ιχνηλασιμότητα προϊόντων χοίρου της Ιβηρικής που έχουν διαφοροποιηθεί στην Ισπανία ως μια παράμετρο ενός βιώσιμου συστήματος στήριξης της βιοποικιλότητας και της παράδοσης που θα επιτυγχάνει αποδόσεις υψηλής ποιότητας με ειδικές οργανοληπτικές ιδιότητες. Το χοιρομέρι της Ιβηρικής (Iberian Cured Ham ) έχει αποκτήσει εξαιρετική φήμη, μπορεί να κοστίζει έως και 10 φορές περισσότερο από ένα κανονικό χοιρομέρι και αυτό οδήγησε σε μια αδιάκριτη χρήση του όρου «Iberico» (Carrión et al., 2003, García et al., 2006). Για την παραγωγή του η ισπανική νομοθεσία επιτρέπει στη σύστασή του την ύπαρξη ζώων προέλευσης Duroc έως και 50%, αλλά ζαμπόν που παρασκευάζονται από καθαρές φυλές χοίρων της Ιβηρικής ονομάζονται «Pure Iberian Ham». Μελέτες για γονίδια του

χρώματος του τριχώματος έχουν ήδη πραγματοποιηθεί, αλλά η διακύμανση του χρώματος σε αυτές τις φυλές (από ξανθό έως μαύρο) όπως επίσης και η επιτρεπόμενη ανάμειξη με φυλές Duroc στις διασταυρώσεις, κάνει τις ταυτοποιήσεις, μέσω της χρήσης αυτών των γονιδίων και μόνο, δύσκολη. Οι Carrión et al. (2003), συνέλεξαν δείγματα από ζαμπόν Ιβηρικής από ορισμένες αγορές, τα ανέλυσαν με τη βοήθεια των γονιδιακών τόπων MC1R και KIT και βρήκαν μια σειρά αλληλομόρφων MC1R και στοιχεία ύπαρξης νέων απλότυπων που θα μπορούσαν να προέρχονται από τον κόκκινο-καστανό τύπο αλλά δεν μπόρεσαν να καταλήξουν σε ένα οριστικό test απόλυτης διάκρισης. Οι Fernández et al. (2004) έλυσαν το πρόβλημα, ενισχύοντας και συμπληρώνοντας τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την ανάλυση του MC1R με αποτελέσματα από την ανάλυση τεσσάρων μικροδορυφορικών τόπων, του γονιδίου pink-eyed dilution και εννέα ενισχυμένων θραυσμάτων με πολυμορφισμό μήκους (AFLP), επιτυγχάνοντας την απόλυτη διάκριση μεταξύ των γενοτύπων καθαρών φυλών Ιβηρικής και διασταυρώσεων με Duroc. Η μέθοδος AFLP εφαρμόστηκε επίσης και από τους Alves, Castellanos, Onilo, Sillio και Rodríguez (2002) και επιβεβαίωσαν την ύπαρξη εννέα πολυμορφικών τμημάτων που εντοπίστηκαν μόνο στη φυλή Duroc ενώ άλλοι τρεις πολυμορφισμοί βρίσκονται μόνο στους χοίρους της Ιβηρικής. Η χρήση των μεθόδων αυτών θα επιτρέψει την ανίχνευση ζώων από διασταυρώσεις με συνολική πιθανότητα αποκλεισμού ενός καθαρού χοίρου Ιβηρικής προέλευσης 0,97 και 0,71 για 50% και 25% διασταυρώσεις με Duroc, αντίστοιχα. Περαιτέρω μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε στελέχη της Ιβηρικής έχουν δείξει την παρουσία ειδικών δεικτών AFLP για τα συγκεκριμένα στελέχη. Τέτοιες πληροφορίες είναι σημαντικές για τη διαχείριση της διατήρησης των άκρως καθαρών στελεχών της Ιβηρικής για τα οποία η διάκριση μεταξύ τους (Ónilo et al., 2000). Μελέτες για τη διατήρηση και τη διαχείριση των μικρών πληθυσμών χρησιμοποιούν συχνά δείκτες AFLP, που επιτρέπουν την ανίχνευση ειδικών δεικτών για κάθε φυλή. Για παράδειγμα οι De Marchi et al. (2006) σε μια μελέτη διερεύνησης της γενετικής παραλλαγής σε τέσσερις ιταλικές αυτόχθονες φυλές κοτόπουλων εντόπισαν ειδικούς δείκτες σε κάθε φυλή, οι οποίοι είναι ιδανικοί για την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό των φυλών στην αγορά. Ωστόσο, ακόμη και αν τα

αποτελέσματα παρατέθηκαν δείχνουν να είναι πολλά υποσχόμενα και θα μπορούσαν να ενισχύσουν τη χρήση των δεικτών AFLP για τον προσδιορισμό και την ιχνηλασιμότητα της φυλής, η έρευνα θα πρέπει να επεκταθεί σε μεγαλύτερο αριθμό μεμονωμένων δειγμάτων, προκειμένου να ελεγχθεί η μοναδικότητα των δεικτών για κάθε φυλή. Η χρήση αναμεμιγμένων δειγμάτων, στην ουσία, θα μπορούσε να είναι χρήσιμη ώστε να επιβεβαιωθεί η αποκλειστική παρουσία των εν λόγω δεικτών. Παρόλα αυτά, σε μερικές περιπτώσεις οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται σε απλές διαφορές στις συχνότητες αλληλομόρφων του πληθυσμού, όπως καταδεικνύεται από τους Negrini et al. (2003) με την έρευνά τους σχετικά με ορισμένες ιταλικές φυλές βοοειδών. Συμπερασματικά, η χρήση των δεικτών AFLP για τη γενετική ιχνηλασιμότητα της φυλής προτείνεται από διάφορους συγγραφείς (Alves et al, 2002, Negrini et al, 2003, De Marchi et al, 2006). Οι Ónilo et al. (2000) επιβεβαίωσαν ότι η χρήση μικροδορυφόρων για την ανίχνευση διαφορετικών στελεχών από ειδικά αλληλόμορφα του πληθυσμού ήταν αδύνατη, γεγονός που πιστοποιεί τη χαμηλότερη διακριτική ισχύ των μικροδορυφόρων σε σχέση με τους δείκτες AFLP, τουλάχιστον για τα πολύ στενά συνδεδεμένα άτομα. Εντούτοις, όλους οι συγγραφείς συμφωνούν με την άποψη ότι η τεχνική AFLP είναι πολύπλοκη, δαπανηρή, και δεν είναι εύκολο να εφαρμόζεται σε ρουτίνα ελέγχων. Για να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα είναι σκόπιμο οι δείκτες AFLP να μετατραπούν σε απλούστερα πρωτόκολλα βασισμένα στην PCR (Ónilo et al., 2000, Alves et al., 2002), κατά τα πρότυπα των Sasazaki et al., (2004) στη μελέτη τους που αποσκοπούσε στη διάκριση των βοοειδών Japanese Black από μια διασταύρωση μεταξύ Japanese Black και Holstein Friesian.

#### Η Πιθανολογική προσέγγιση

Η καταχώρηση ατόμων σε πληθυσμούς αποτελεί ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών τόσο στη γενετική των πληθυσμών, π.χ. για την αξιολόγηση της διαφοροποίησης των πληθυσμών στις πολικές αρκούδες (Paetkau et al., 1995) ή για την ταξινόμηση των ψαριών (Taylor, Beacham, & Kaeriyama, 1994) ή των μελισσών (Cornuet, Aulagnier, Lek, Franck, & Solignac, 1996) όσο και στις ιατροδικαστικές έρευνες για την εξακρίβωση της γνησιότητας ενός επισημασμένου προϊόντος διατροφής. Η χρησιμοποιούμενη

μεθοδολογία, που βασίζεται σε αναλύσεις των επιμέρους γενοτύπων, επικαλείται το γεγονός ότι τα άτομα θα έχουν περισσότερες ομοιότητες στους γενοτύπους τους όταν προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό (Cornuet et al, 1999). Αυτές οι «γενετικές μέθοδοι» βασίζονται στην πιθανότητα ότι ο γενότυπος του ατόμου που θέλουμε να καταχωρήσουμε εμφανίζεται μόνο σε ένα από δύο ή περισσότερους υποψήφιους πληθυσμούς (Paetkau et al, 1995; Rannala & Mountain, 1997), ή στο ότι η γενετική απόσταση είναι πλησιέστερη μεταξύ του ατόμου και ενός πληθυσμού μεταξύ διαφόρων (Cornuet et al., 1999). Αυτά τα στατιστικά εργαλεία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση του συστήματος ιχνηλασιμότητας μιας φυλής. Σύμφωνα με τους Cornuet et al. (1999) οι μέθοδοι της μέγιστης πιθανοφάνειας, ιδιαίτερα εκείνες που βασίζονται σε μια Μπεϋζιανή προσέγγιση, παράγουν τα καλύτερα αποτελέσματα, αλλά ο πληθυσμός πρέπει να είναι σε ισοζύγιο Hardy-Weinberg και ισορροπία σύνδεσης. Μεθοδολογίες που βασίζονται σε γενετικές αποστάσεις μπορούν να ξεπεράσουν αυτό το τελευταίο πρόβλημα και θα μπορούσαν να είναι πιο κατάλληλες αν αυτές οι δύο παραδοχές δεν πληρούνται. Υπάρχουν, ωστόσο, και άλλες πτυχές που επηρεάζουν την σωστή καταχώρηση όπως ο αριθμός των ζώων και των γενετικών τόπων που θα αναλυθούν, η γενετική ποικιλομορφία των τόπων και η διαφοροποίηση του πληθυσμού. Οι παράμετροι αυτοί έχουν διερευνηθεί από τους Bjørnstad και Røed (2002). Σύμφωνα με αυτούς, και η γενετική διαφοροποίηση αλλά και ο αριθμός των υπό μελέτη γενετικών τόπων είναι ιδιαίτερα σημαντικά. Για πολύ διαφοροποιημένες φυλές ( $0.200 < F_{ST} < 0.259$ ), μόνο τρεις τόποι θα αρκούσαν για να επιτευχθεί μια καταχώρηση με ακρίβεια 95%. Τόποι των οποίων η ποικιλομορφία κυμαίνεται από ενδιάμεσα έως υψηλά επίπεδα εντός και μεταξύ πληθυσμών δίνουν καταχωρήσεις με υψηλότερη ακρίβεια, ενώ το μέγεθος του δείγματος της φυλής δεν είναι κρίσιμο, όσο αναλύονται περισσότερα από 20 ζώα ανά φυλή. Αρκετές μελέτες σχετικά με τα διάφορα είδη επιβεβαιώνουν την αποτελεσματικότητα της Μπεϋζιανής προσέγγισης, εάν αναλύεται ο κατάλληλος αριθμός δεικτών (Bjørnstad & Røed, 2001, Negrini et al, 2003, Vega-Pla, Martínez, Cabello, Rodríguez-Gallardo, & Delgado, 2003, Ciampolini et al, 2006, Dalvit et al, 2006,



Filippini et al, 2006,; García et al, 2006). Το μεγάλο πρόβλημα για την αποτελεσματική εφαρμογή των μεθόδων αυτών είναι η επιλογή των τόπων που πρέπει να αναλυθούν και η δημιουργία μιας συγκεντρωτικής βάσης δεδομένων που να συγκεντρώνει τις συχνότητες των αλληλομόρφων όλων των δυνατών εναλλακτικών φυλών προέλευσης, σταθμισμένων με το μέγεθος του πληθυσμού, προκειμένου να δοθεί απάντηση στο κρίσιμο ερώτημα «ποια είναι η πιθανότητα αυτό το ζώο να ανήκει πραγματικά σε αυτή τη φυλή;» (Ciampolini et al., 2000, 2006). Η συλλογή δειγμάτων από όλες τις εναλλακτικές φυλές είναι απαραίτητη καθώς οι μέθοδοι μέγιστης πιθανοφάνειας ελέγχουν εάν το υπό ανάλυση δείγμα ανήκει σε έναν από τους πληθυσμούς αναφοράς και το αποτέλεσμα μπορεί να είναι ανακριβές εάν η προϋπόθεση αυτή δεν πληρούται (Baudouin, Piry, & Cornuet, 2004). Οι Baudouin et al. (2004) υπογράμμισαν επίσης τη σημασία της ποιότητας του πληθυσμών αναφοράς, που καθορίζεται και την ποιότητα των παρατηρούμενων αποτελεσμάτων. Πληροφορίες σχετικά με τη γενετική ποικιλομορφία των πληθυσμών, τη γενετική ισορροπία τους και τον επαρκή αριθμό δειγμάτων (που συλλέγονται αποφεύγοντας πολύ συγγενικά άτομα), είναι ουσιαστικής σημασίας.

Η βασική κριτική ως προς τη χρήση αυτών των μεθόδων έγκειται στις δυσκολίες χειρισμού των απαραίτητων στατιστικών εργαλείων που απαιτούν συχνά μια βαθιά γνώση και οικειότητα, γεγονός που καθιστά δύσκολη την καθιέρωσή τους σε ελέγχους ρουτίνας (Baudouin et al, 2004, García et al., 2006). Για την υπερπήδηση του εμποδίου αυτού ορισμένοι αναλυτές έχουν προτείνει λογισμικά φιλικά προς το χρήστη, που διατίθενται δωρεάν στο διαδίκτυο, που επιτρέπει τον υπολογισμό των αναγκαίων παραμέτρων, με πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα τα πακέτα Structure (Pritchard, 2000) και GeneClass2 (Baudouin et al., 2004). Και οι δύο βασίζονται σε μια Μπεϋζιανή προσέγγιση, αλλά η διαδικασία καταχώρησης είναι διαφορετική.

#### *Γενετική ιχνηλασιμότητα Ειδών*

Η ταυτοποίηση των ειδών στα προϊόντα με βάση το κρέας ήταν πάντα σημαντική για τους καταναλωτές λόγω των κοινωνικών, θρησκευτικών, υγειονομικών και οικονομικών

επιπτώσεων. Σήμερα, σφάγια και ολόκληρα ψάρια σπάνια εμφανίζονται, ενώ είτε νωπά ή κατεψυγμένα τεμάχια, είτε επεξεργασμένα και έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα είναι όλο και περισσότερο διαθέσιμα, καθιστώντας την ταυτοποίηση των ειδών δύσκολη. Για το λόγο αυτό δόλια νοθεία θα μπορούσε να γίνει με αντικατάσταση των ειδών κρεάτων, ψαριών ή πουλερικών που δηλώνονται στις ετικέτες με άλλα χαμηλότερης εμπορικής αξίας (Hunt, Parkes, & Lumley, 1997, Martinez & Malmheden Yman, 1998). Η παραποίηση είναι πραγματικά πολύ συχνή σε προϊόντα κρέατος θηραμάτων με αποτέλεσμα μεγαλύτερο κέρδος λόγω των υψηλότερων τιμών των ειδών αυτών σε σύγκριση με το βόειο ή χοιρινό κρέας (Blackett & Keim, 1992, Wolf, Rentsch, & Hübner, 1999). Η αγορά των αλιευμάτων επίσης εμπλέκεται σε παραχαράξεις του τελικού προϊόντος, ιδίως στην περίπτωση των κονσερβοποιημένων ψαριών, όπως π.χ. ο τόνος, του οποίου το γένος αποτελείται από πολλά διαφορετικά είδη που χαρακτηρίζονται από διαφορετική ποιότητα (Unsel, Beyermann, Brandt, & Hiesel, 1995). Ο τομέας των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι το αντικείμενο απάτης όσον αφορά το γάλα και πάνω απ' όλα τα είδη τυριών προέλευσης. Στην πραγματικότητα, η μεγαλύτερη διαθεσιμότητα και το χαμηλότερο κόστος του αγελαδινού γάλακτος σε σχέση με το κατσικίσιο, το πρόβειο ή το βουβαλίσιο οδηγεί σε νοθείες στην παρασκευή τυριών (Maudet & Taberlet, 2001). Για να καταλάβουμε τη σημασία αυτής της απάτης αξίζει να αναφερθεί ότι στην Ιταλία η προσθήκη αδήλωτου αγελαδινού γάλακτος σε βουβαλίσιο γάλα για την παρασκευή τυριού είναι η πιο συχνή απάτη που αναφέρθηκε από την Κεντρική Επιθεώρηση Καταστολής Απάτης, του Ιταλικού Υπουργείου Γεωργικής και Δασικής Πολιτικής το 1998 και το 1999 από όλα τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Το 1998 και το 1999 περίπου το 13% των τυριών που ελέγχθηκαν περιείχαν αδήλωτο μη βουβαλίσιο γάλα (Rea et al., 2001).

Αρχικά, οι προσεγγίσεις για την ταυτοποίηση των ειδών βασίστηκαν σε αναλύσεις πρωτεϊνών και ανοσολογικούς ελέγχους (Berger, Mageau, Schwab, & Johnston, 1988, Patterson & Jones, 1990). Αυτές οι μέθοδοι παρουσιάζουν δύο βασικά μειονεκτήματα: η έκφραση της πρωτεΐνης εξαρτάται από το είδος του ιστού, και οι πρωτεΐνες μπορούν μετουσιωθούν κατά την επεξεργασία και τη θέρμανση (Hunt et al,

1997, Martinez & Malmheden Yman, 1998). Εν τούτοις, η νομοθεσία αναγνωρίζει ακόμα τέτοιες μέθοδοι ως επίσημες. Πράγματι, η τεχνική αναφοράς για την ανίχνευση του αγελαδινού γάλακτος βασίζεται στην ισοηλεκτρική εστίαση της β-καζεΐνης (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 1996). Η έρευνα σήμερα έχει επικεντρωθεί στην μελέτη του DNA που είναι παρόν σε κάθε κύτταρο, παραμένει σχετικά σταθερό κατά την επεξεργασία των τροφίμων και είναι ανιχνεύσιμο ακόμα και σε ώριμα τυριά (Plath, Krause, & Einspanier, 1997). Αναλυτικές προσεγγίσεις βασισμένες στο DNA αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά προς το τέλος της δεκαετίας του 1980 και στις αρχές της δεκαετίας του 1990, χρησιμοποιώντας απλές αναλύσεις με το ολικό γενωμικό DNA των ειδών ως ανιχνευτή και ήταν σε θέση να προσδιορίσουν με σαφήνεια είδη, όπως το χοιρινό και το κοτόπουλο, απέτυχαν όμως στα μηρυκαστικά (Bauer, Teifel-Greding, & Liebhardt, 1987, Chikuni, Ozutsumi, Koishikawa & Kato, 1990, Ebbenhøj & Thomsen, 1991, Winterø, Thomson & Davies, 1990). Οι Hunt et al. (1997) ανέπτυξαν μια μέθοδο για την ανίχνευση πολλών διαφορετικών ειδών με τη χρήση ειδο-ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων, επιτυγχάνοντας ικανοποιητικά αποτελέσματα μέχρι το ελάχιστο επίπεδο πρόσμιξης του 2,5%, χωρίς τη χρήση ενίσχυσης του DNA με PCR, μέθοδος η οποία, την περίοδο εκείνη, θεωρείτο ακόμη υπερβολικά ευαίσθητα με πολλά τεχνικά προβλήματα, ενώ οι Janssen, Hägele, Buntjer & Lenstra (1998) χρησιμοποίησαν ανιχνευτές σε συνδυασμό με PCR. Λίγα χρόνια αργότερα, τεχνικές βασισμένες στην PCR αντικατέστησαν όλες τις μεθόδους που χρησιμοποιούνταν μέχρι τότε. Η τεχνική RFLP εφαρμόστηκε από διάφορους ερευνητές και σε γονιδιωματικό και σε μιτοχονδριακό DNA (Bania, Ugorski, Polanowski, & Adamczyk, 2001, Montiel-Sosa et al, 2000, Plath et al, 1997, Quinteiro et al, 1998, Ram, Ram, & Baidoun, 1996, Wolf et al., 1999), αλλά τελικά οι πιο πρόσφατες τεχνικές στηρίζονται στην ενίσχυση με εκκινητές που έχουν σχεδιαστεί για να δίνουν διαφορετικού μήκους τμήματα στα διάφορα είδη όπως προτείνεται από τους Matsunaga et al. (1999). Το μιτοχονδριακό DNA, ωστόσο, παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με το γονιδιωματικό. Είναι παρόν σε χιλιάδες αντίτυπα ανά κύτταρο, βελτιώνοντας τη δυνατότητα να ενισχυθούν πρότυπα μόρια με το κατάλληλο μέγεθος. Η πολύ καλή γνώση της οργάνωσης και η τεράστια διαθεσιμότητα

των αλληλουχιών DNA για πολλά είδη, καθιστά το σχεδιασμό ειδικών εκκινητών ευκολότερη ενώ τα υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού επιτρέπουν την αξιόπιστη ταυτοποίηση συγκεκριμένων ειδών σε μείγματα (Mackie et al, 1999, Maudet & Taberlet, 2001, Montiel-Sosa et al, 2000). Το γονίδιο του κυτοχρώματος β (Cyt b) έχει ευρέως μελετηθεί, επιτρέποντας την εύκολη και σαφή διαφοροποίηση των ειδών τόσο στον τόνο και το σολομό (Bartlett & Davidson, 1991, Quinteiro et al, 1998, Rehbein, 2005, Russel et al, 2000, Unsel et al., 1995), σε κρέατα (Matsunaga et al., 1999), και σε γαλακτοκομικά προϊόντα (Banía et al, 2001; Rea et al, 2001). Στην τελευταία αυτή περίπτωση, επίσης, η μελέτη του γονιδίου της β-καζεΐνη έχει προταθεί από τους Plath et al, (1997), ενώ οι Maudet και Taberlet (2001) πρότειναν τη χρήση εκκινητών για τον έλεγχο της περιοχή του μιτοχονδριακού DNA που ονομάζεται D-loop που είχε ήδη ερευνηθεί από τους Fei et al, (1996) ως προς την ικανότητά του να διαφοροποιεί και να ταυτοποιεί προϊόντα με βάση το κρέας. Αντιθέτως, σε μελέτη που διεξήχθη από τους Bellis, Ashton, Freney, Μπλερ και Griffiths (2003) προτάθηκε η ενίσχυση ενός πολυμορφικού ιντρονίου εντός του υψηλά συντηρημένου ογκο-κατασταλτικού γονιδίου TP53, που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή τμημάτων DNA διαφόρων μεγεθών μεταξύ των ειδών. Η τεχνική AFLP θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί για διαφοροποίηση των ειδών, όπως φαίνεται από του Cassandro et al. (2005) οι οποίοι χρησιμοποίησαν αυτούς τους δείκτες για τη διάκριση μεταξύ ειδών πτηνών. Μια τέτοια μέθοδος ήδη χρησιμοποιείται ευρέως για τη διαφοροποίηση ειδών στα φυτά (Cervera et al., 2000).

Συμπερασματικά, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες, για τον έλεγχο των τεχνικών, χρησιμοποιούνται εμπορικά δείγματα που συλλέγονται σε σούπερ μάρκετ ή κρεοπωλεία και εντοπίστηκαν αρκετές περιπτώσεις παραποίησης και νοθείας γεγονός που υποδηλώνει ότι οι έλεγχοι θα πρέπει να είναι πιο αυστηροί και εμπειρισταωμένοι προκειμένου να προστατευθούν οι καταναλωτές από την απάτη.

## **Συμπεράσματα**

Η ιχνηλασιμότητα των ζωικών προϊόντων είναι ένα απαραίτητο εργαλείο για την προστασία της δημόσιας υγείας των ανθρώπων και των ζώων, καθώς και στην αξιοποίηση τυπικών παραδοσιακών τροφίμων. Η Ευρωπαϊκή Ένωση, από το 2005, έχει ζητήσει αυστηρό νομοθετικό πλαίσιο όσον αφορά στα συστήματα επισήμανσης για τα προϊόντα διατροφής. Έχει αποδειχθεί ότι οι μέθοδοι που βασίζονται μόνο στην ιχνηλασιμότητα στη χρήση κωδικών μιας παρτίδας ή στη διακίνηση εγγράφων δεν μπορούν πάντα να είναι αξιόπιστες, και εύκολα μπορούν να πλαστογραφηθούν.

Επί του παρόντος, με βάση τις μελέτες, το DNA φαίνεται να είναι το κατάλληλο εργαλείο για την εξακρίβωση της προέλευσης των ζωικών προϊόντων και η έρευνα έχει σημειώσει τεράστια βελτίωση τα τελευταία χρόνια, εξάλλου, οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούνται ήδη για ελέγχους σε ανθρώπινα δείγματα σε ιατροδικαστική περιπτώσεις.

Το σημαντικότερο πρόβλημα για την αποτελεσματική εφαρμογή τους είναι το υψηλό κόστος, ασύμφορο, προς το παρόν, αν οι μέθοδοι αυτές θα πρέπει να πραγματοποιούνται σε αναλύσεις ρουτίνας, αλλά προσιτό απαιτούνται μόνο ως εξακρίβωση σε ειδικές στοχευμένες περιπτώσεις (π.χ. όταν απαιτείται η ανάκληση μιας παρτίδας). Όλοι οι τύποι ιχνηλασιμότητας επιβαρύνουν με αύξηση του κόστους τις εταιρείες τροφίμων, αλλά είναι αναγκαίο να αναλυθεί ποιο μέρος των εν λόγω πρόσθετων δαπανών θα μπορούσε να μεταφραστεί σε οφέλη. Για παράδειγμα, μέθοδοι που διασφαλίζουν μια αποτελεσματική ανάκληση, όπως οι τεχνολογίες του DNA, θα μπορούσαν να αποτρέψει την ανάκληση των ασφαλών παρτίδων. Επίσης, θα πρέπει να διερευνηθεί περισσότερο η προθυμία των καταναλωτών να πληρώσουν για ασφαλέστερα τρόφιμα. Σε γενικές γραμμές, οι καταναλωτές συμφωνούν να πληρώσουν επιπλέον για ασφαλέστερα τρόφιμα ιδίως στις ανεπτυγμένες χώρες (Henson, 1996, Unnevehr, 2000), έστω και αν ορισμένοι συγγραφείς πιστεύουν ότι οι πραγματικές αποφάσεις για αγορές ως επί το πλείστον βασίζονται στην οικονομική άνεση και όχι στην παρουσία ενός σήματος πιστοποίησης (Blend & van Ravenswaay, 1999). Παρά τις διαφορές στη συμπεριφορά των καταναλωτών, οι Gellynck,

Januszewska, Verbeke και Viaene (2005) και οι Meuwissen et al. (2003) τονίζουν ότι τα λειτουργικά χαρακτηριστικά όπως είναι η αποτελεσματική ανάκληση των προϊόντων, η δυνατότητα να εντοπιστεί η ατομική ευθύνη, και η πλήρης ιχνηλασιμότητα στην αλυσίδα τροφίμων μπορεί να θεωρηθούν ως οι ελάχιστες απαιτήσεις για τα συστήματα ιχνηλασιμότητας από όλους τους καταναλωτές. Βάσει όλων αυτών, η δυναμική της τεχνολογίας DNA φαίνεται εύλογη και άμεση.

Το δεύτερο πρόβλημα που πρέπει να ξεπεραστεί είναι η επίτευξη μιας συμφωνίας ως προς τους δείκτες, τις μεθοδολογίες και τις προσεγγίσεις που πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Όπως αποδεικνύεται από όλες τις μελέτες που αναφέρονται στην παρούσα επισκόπηση, η επιστημονική κοινότητα συζητά ακόμη πολλές διαφορετικές προσεγγίσεις και είναι σίγουρο πως απαιτούνται συγκεκριμένες κατευθυντήριες γραμμές. Τα πρώτα βήματα έχουν ήδη γίνει από τη Διεθνή Εταιρεία Γενετικής Ζώων και την Επιτροπή του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας, που πρότειναν συγκεκριμένες ομάδες μικροδορυφορικών δεικτών σε διάφορα είδη για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας των ζώων και για σκοπούς διατήρησης (2004). Πλέον, οι έρευνες έχουν ενταθεί γύρω από ένα σύνολο προτάσεων και υπάρχει η δυνατότητα άμεσης σύγκρισης διαφορετικών αποτελεσμάτων. Είναι δεδομένο ότι σε καλά οργανωμένες κοινωνίες όπου, τόσο οι επαγγελματίες όσο και οι καταναλωτές, ενδιαφέρονται για την αξιοπιστία της βιομηχανίας διατροφής, η γενετική ιχνηλασιμότητα αποτελεί πλέον ένα χρήσιμο και αξιόπιστο εργαλείο, ενώ η συνεχής απλοποίηση των τεχνικών πολύ σύντομα θα την καταστήσει εφαρμόσιμη σε όλο το εύρος παραγωγής και εμπορίας.

### **Βιβλιογραφία**

- Alderson, G. L. H., & Plastow, G. S. (2004). Use of DNA markers to assist with product traceability and pedigree analysis and their role in breed conservation. *Animal Genetic Resource Information*, 35, 1–7.
- Alves, E., Castellanos, C., Ovilo, C., Silió, L., & Rodríguez, C. (2002). Differentiation of the raw material of the Iberian pig meat industry based on the use of amplified fragment length polymorphism. *Meat Science*, 61, 157–162.

- Ajmone-Marsan, P., Milanese, E., & Negrini, R. (2004). Breed traceability using molecular methods. In Proceedings of the seventh world conference of the Brown Swiss cattle breeders (pp. 101–104).
- Arana, A., Soret, B., Lasa, I., & Alfonso, L. (2002). Meat traceability using DNA markers: Application to the beef industry. *Meat Science*, 61, 367–373.
- Bania, J., Ugorski, M., Polanowski, A., & Adamczyk, E. (2001). Application of polymerase chain reaction for detection of goats' milk adulteration by milk of cow. *Journal of Dairy Research*, 68, 333–336.
- Barcos, L. O. (2001). Recent developments in animal identification and the traceability of animal products in international trade. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 20(2), 640–651.
- Bartlett, S. E., & Davidson, W. S. (1991). Identification of *Thunnus* tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 309–317.
- Baudouin, L., Piry, S., & Cornuet, J. M. (2004). Analytical Bayesian approach for assigning individuals to populations. *Journal of Heredity*, 95(3), 217–224.
- Bauer, C., Teifel-Greding, J., & Liebhardt, E. (1987). Species identification of heat denaturated meat samples by DNA analysis. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 38, 149–176.
- Bellis, C., Ashton, K. J., Freney, L., Blair, B., & Griffiths, L. R. (2003). A molecular genetic approach for forensic animal species identification. *Forensic Science International*, 134, 99–108.
- Berger, R., Mageau, K., Schwab, B., & Johnston, R. (1988). Detection of poultry and pork in cooked and canned meat foods by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 71, 406–409.
- Blackett, R. S., & Keim, P. (1992). Big game species identification by deoxyribonucleic acid (DNA) probes. *Journal of Forensic Sciences*, 37(2), 590–596.
- Blend, J. R., & van Ravenswaay, E. O. (1999). Measuring consumer demand for eco-labeled apples. *American Journal of Agricultural Economics*, 81, 1072–1077.

- Bjørnstad, G., & Røed, K. H. (2001). Breed demarcation and potential for breed allocation of horses assessed by microsatellites markers. *Animal Genetics*, 32, 59–65.
- Bjørnstad, G., & Røed, K. H. (2002). Evaluation of factors affecting individual assignment precision using microsatellite data from horse breeds and simulated breed crosses. *Animal Genetics*, 33, 264–270.
- Carrión, D., Day, A., Evans, G., Mitsuhashi, T., Archibald, A., Haley, C., et al. (2003). The use of MC1R and KIT genotypes for breed characterisation. *Archivos de Zootecnia*, 52, 237–244.
- Cassandro, M., Targhetta, C., De Marchi, M., Dalvit, C., Barcaccia, G., & Bittante, G. (2005). DNA fingerprinting characterization of 4 Italian poultry species. In *Proceedings of the XIII international conference on the status of plant & animal genome research* (p. 210).
- Cervera, M. T., Remington, D., Frigerio, J. M., Storme, V., Ivens, B., Boerjan, W., et al. (2000). Improved AFLP analysis of tree species. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(10), 1608–1616.
- Ciampolini, R., Leveziel, H., Mozzanti, E., Grohs, C., & Cianci, D. (2000). Genomic identification of an individual or its tissue. *Meat Science*, 54, 35–40.
- Ciampolini, R., Cetica, V., Ciani, E., Mozzanti, E., Fosella, X., Marroni, F., et al. (2006). Statistical analysis of individual assignment tests among four cattle breeds using fifteen STR loci. *Journal of Animal Science*, 84, 11–19.
- Chikuni, K., Ozutsumi, K., Koishikawa, T., & Kato, S. (1990). Species identification of cooked meats by DNA hybridisation assay. *Meat Science*, 27, 119–128.
- Cornuet, J. M., Aulagnier, S., Lek, S., Franck, P., & Solignac, M. (1996). Classifying individuals among infra-specific taxa using microsatellite data and neural networks. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie*, 319, 1167–1177.
- Cornuet, J. M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., & Solignac, M. (1999). New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, 153, 1989–2000.



- Cozzi, G., & Ragno, E. (2003). Meat production and market in Italy. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 68(2), 1331–7776.
- Crepaldi, P., Fornarelli, F., & Marilli, M. (2005). MC1R gene: comparison between different farm animal species. *Italian Journal of Animal Science*, 4(2), 43–45.
- Crepaldi, P., Marilli, M., Gorni, C., Meggiolaro, D., & Cicogna, M. (2003). Preliminary study on MC1R polymorphism in some cattle breeds raised in Italy. *Italian Journal of Animal Science*, 2(1), 13–15.
- Cunningham, E. P., & Meghen, C. M. (2001). Biological identification systems: genetic markers. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 20(2), 491–499.
- Dalvit, C., Targhetta, C., Gervaso, M., De Marchi, M., Mantovani, R., & Cassandro, M. (2006). Application of a panel of microsatellite markers for the genetic traceability of bovine origin products. In *Proceedings of 57th annual meeting of the European association for animal production* (p. 26).
- De Marchi, M., Targhetta, C., Contiero, B., & Cassandro, M. (2003). Genetic traceability of chicken breeds. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 68(4), 255–259.
- De Marchi, M., Dalvit, C., Targhetta, C., & Cassandro, M. (2006). Assessing genetic diversity in indigenous Veneto chicken breeds using AFLP markers. *Animal Genetics*, 37(2), 101–105.
- Ebbehøj, K. F., & Thomsen, P. D. (1991). Species differentiation of heated meat products by DNA hybridisation. *Meat Science*, 30, 221–234.
- European Economic Community (1957). *Treaty establishing the European economic community and connected documents*. Publishing services of the European communities (pp. 5–83).
- European Commission (1996). Commission Regulation (EEC) No. 1081/96 of 14 June 1996. Reference Method for the detection of cows' milk and caseinate in cheeses from ewes' milk, goats' milk and buffalos' milk. *Official Journal of the European Communities*, L142, 15–25.

European Commission (1997). Green Paper on the general principles of food law in the European Union.

European Commission (2000). Council Regulation (EC) No. 1760/2000 of 17 July 2000 establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labeling of beef and beef products and repealing Council Regulation (EC) No 820/97. Official Journal of the European Communities, L 204, 1–10.

European Commission (2000). Commission Regulation (EC) No. 1825/2000 of 25 August 2000 laying down detailed rules for the application of Regulation (EC) No 1760/2000 of the European Parliament and of the Council as regards the labelling of beef and beef products. Official Journal of the European Communities, L 216, 8–12.

European Commission (2000). White Paper on food safety. European Commission (2002). Council Regulation (EC) No 178/2002 of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Official Journal of the European Communities, L 31, 1–24.

Food and Agricultural Organization (FAO) (2004). Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers.

Fei, S., Okayama, T., Yamanoue, M., Nishikawa, I., Mannen, H., & Tsuji, S. (1996). Species identification of meats and meat products by PCR. *Animal Science and Technology (Jpn)*, 67, 900–905.

Fernández, A., Fabuel, E., Alves, E., Rodriguez, C., Siliá, L., & Óvilo, C. (2004). DNA tests based on coat colour genes for authentication of the raw material of meat products from Iberian pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1855–1860.

Filippini, G., Cetica, V., Ciampolini, R., Biagetti, M., Cecchi, F., Mazzanti, E., et al. (2006). Beef traceability using molecular methodologies. *Veterinary Research Communications*, 30(1), 375–377.

- Franke, B. M., Gremaud, G., Hadorn, R., & Kreuzer, M. (2005). Geographic origin of meat-elements of an analytical approach to its authentication. *European Food Research and Technology*, 221, 493–503.
- Furumura, M., Sakai, C., Potter, S. B., Vieira, W. D., Barsh, G. S., & Hearing, V. J. (1998). Characterization of genes modulated during pheomelanogenesis using differential display. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 7374–7378.
- Gandini, G. C., & Oldenbroek, J. K. (1999). Choosing the conservation strategy. In J. K. Oldenbroek (Ed.), *Genebanks and conservation of farm animal genetic resources* (pp. 11–31). Lelystad, The Netherlands: DLO Institute for Animal Science and Health.
- García, D., Martínez, A., Dunner, S., Vega-Pla, J. L., Fernández, C., Delgado, J. V., et al. (2006). Estimation of the genetic admixture composition of Iberian dry-cured ham samples using DNA multilocus genotypes. *Meat Science*, 72, 560–566.
- Gellynck, X., Januszewska, R., Verbeke, W., Viaene, J. (2005). Firm's costs of traceability confronted with consumer requirements. In *Proceedings 92nd seminar on quality management and quality assurance in food chains of the European Association of Agricultural Economists*. <http://www.eaae.uni-goettingen.de/>.
- Goffaux, F., China, B., Dams, L., Clinquart, A., & Daube, G. (2005). Development of a genetic traceability test in pig based on single nucleotide polymorphism detection. *Forensic Science International*, 151, 239–247.
- Golan, E., Krissof, B., Kuchler, F., Nelson, K., & Price, G. (2004). Traceability in the US food supply: economic theory and industry studies. Agricultural Economic report no. AER830 (pp. 56). Eshington, DC: Economic research service of the United States department of Agriculture.
- Graphodatskaya, D., Joerg, H., & Stranzinger, G. (2002). Molecular and pharmacological characterization of the MSH-R alleles in Swiss cattle breeds. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 22, 421–430.

- Heaton, M. P., Harhay, G. P., Bennett, G. L., Stone, R. T., Grosse, W. M., Casas, E., et al. (2002). Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. *Mammalian Genome*, 13(5), 272–281.
- Heaton, M. P., Keen, J. E., Clawson, M. L., Harhay, G. P., Bauer, N., Schultz, C., et al. (2005). Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1311–1314.
- Henson, S. (1996). Consumer willingness to pay for reductions in the risk of food poisoning in the UK. *Journal of Agricultural Economics*, 47, 403–420.
- Herraeza, D. L., Schafer, H., Mosner, J., Fries, H. R., & Wink, M. (2005). Comparison of microsatellite and single nucleotide polymorphism markers for the genetic analysis of a Galloway cattle population. *Zeitschrift Naturforschung*, C60(7–8), 637–643.
- Hunt, D. J., Parkes, H. C., & Lumley, I. D. (1997). Identification of the species of origin of raw and cooked meat products using oligonucleotide probes. *Food Chemistry*, 60(3), 437–442.
- International Organization for Standardization (ISO) (1994). ISO 8402: Quality management and quality assurance – vocabulary. Geneva: ISO.
- Janssen, F. W., Ha`gele, G. H., Buntjer, J. B., & Lenstra, J. A. (1998). Species identification in meat by using PCR-generated satellite probes. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 21, 115–120.
- Kantanen, J., Olsaker, I., Brusgaard, K., Eythorsdottir, E., Holm, L., Lien, S., et al. (2000). Frequencies of genes for coat colour and horns in Nordic cattle breeds. *Genetic Selection Evolution*, 32, 561–576.
- Kerry, J., & Ledward, D. (2002). *Meat processing*. Abington, UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Klungland, H., Vage, D. I., Gomez-Raya, L., Adalsteinsson, S., & Lien, S. (1995). The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat colour determination. *Mammalian Genome*, 6, 636–639.

- Mackie, I. M., Pryde, S. E., Gonzales-Sotelo, C., Medina, I., Pérez-Martin, R., Quinteiro, J., et al. (1999). Challenges in the identification of species of canned fish. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 9–14.
- Marchant, J. (2002). Secure animal identification and source verification. JM Communications, UK. Copyright Optibrand Ltd., LLC.
- Mariani, P., Panzitta F., Nardelli Costa J., Lazzari B., Crepaldi P., Marilli M., Fornarelli F., Fusi M., Milanese E., Negrini R., Silveri R., Filippini F., & Ajmone Marsan, P. (2005). Metodi molecolari per la tracciabilità dei prodotti di origine animale. In *Proceedings of the 4<sup>th</sup> World Italian Beef Cattle Congress* (pp. 297–302).
- Martinez, I., & Malmheden Yman, I. (1998). Species identification in meat products by RAPD analysis. *Food Research International*, 31, 459–466.
- Matsunaga, T., Chikuni, K., Tanabe, R., Muroya, S., Shibata, K., Yamada, J., et al. (1999). A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science*, 51, 143–148.
- Maudet, C., & Taberlet, P. (2001). Detection of cows' milk in goats' cheeses inferred from mitochondrial DNA polymorphism. *Journal of Dairy Research*, 68, 229–235.
- Maudet, C., Luikart, G., & Taberlet, P. (2002). Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Animal Science*, 80, 942–950.
- Maudet, C., & Taberlet, P. (2002). Holstein's milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (MC1R) gene polymorphism. *Journal of Dairy Science*, 85, 707–715.
- Mauriello, G., Moio, L., Genovese, A., & Ercolini, D. (2003). Relationship between flavouring capabilities, bacterial composition, and geographical origin of natural whey cultures used for traditional water-buffalo mozzarella cheese manufacture. *Journal of Dairy Science*, 86, 486, 497.
- McKean, J. D. (2001). The importance of traceability for public health and consumer protection. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 20(2), 363–378.

- Montiel-Sosa, J. F., Ruiz-Pesini, E., Montoya, J., Roncalés, P., López-Pérez, M. J., & Pérez-Martos, A. (2000). Direct and highly species-specific detection of pork meat and fat in meat products by PCR amplification of mitochondrial DNA. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2829–2832.
- Meuwissen, M. P. M., Velthuis, A. G. J., Hogeveen, H., & Huirne, R. B. M. (2003). Traceability and certification in meat supply chains. *Journal of Agribusiness*, 21(2), 167–181.
- Negrini, R., Milanese, E., Chegdani, F., Bernardi, J., Filippini, F., Valentini, A., & Ajmone-Marsan, P. (2003). Biallelic markers as a tool for the traceability of bovine breeds. In *Proceedings of the 54th annual meeting of European association for animal production* (p. 91).
- Olson, T. (1999). Genetics of color variation. In R. Fries, A. Ruvinsky (Eds.), *The Genetics of cattle* (pp. 33–54). London, United Kingdom.
- Opara, L., & Mazaud, F. (2001). Food traceability from field to plate. *Outlook on agriculture*, 30(4), 239–247.
- Orrù, L., Napolitano, F., Catillo, G., & Moioli, B. (2006). Meat molecular traceability: How to choose the best set of microsatellites? *Meat Science*, 72, 312–317.
- Óvilo, C., Cervera, M. T., Castellanos, C., & Martínez-Zapater, J. M. (2000). Characterisation of Iberian pig genotypes using AFLP markers. *Animal Genetics*, 31, 117–122.
- Paetkau, D., Clivert, W., Stirling, I., & Strobeck, C. (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, 4, 347–354.
- Pancaldi, M., Carboni, E., Paganelli, A., Righini, G., Salvi, A., Fontanesi, L., et al. (2005). Come garantire l'autenticità dei prodotti agroalimentari tipici. Utilizzo combinato di traccianti biologici e analisi del DNA. *Industrie Alimentari*, 44(452), 1127–1133.
- Patterson, R. L. S., & Jones, S. J. (1990). Review of current techniques for the verification of the species origin of meat. *Analyst*, 115, 501–506.

- Peelman, L. J., Mortiaux, F., Van Zeveren, A., Dansercoer, A., Mommens, G., Coopman, F., et al. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics*, 29, 161–167.
- Pillonel, L., Badertscher, R., Froidevaux, P., Haberhauer, G., Hölzl Horn, P., Jakob, A., et al. (2003). Stable isotope ratios, major, trace and radioactive elements in Emmental cheeses of different origins. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, 36, 615–623.
- Plath, A., Krause, I., & Einspanier, R. (1997). Species identification in dairy products by three different DNA-based techniques. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 205, 437–441.
- Pritchard, J. K. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Quinteiro, J., Sotelo, C. G., Rehbein, H., Pryde, S. E., Medina, I., Pérez-Martín, R. I., et al. (1998). Use of mtDNA direct polymerase chain reaction (PCR) sequencing and PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism methodologies in species identification of canned tuna. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1662–1669.
- Ram, J. L., Ram, M. L., & Baidoun, F. F. (1996). Authentication of canned tuna and bonito by sequence and restriction site analysis of polymerase chain reaction products of mitochondrial DNA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2460–2467.
- Rannala, B., & Mountain, J. L. (1997). Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceeding of the National Academy of Science (USA)*, 94, 9197–9221.
- Rea, S., Chikuni, K., Branciarri, R., Sangamayya, R. S., Ranucci, D., & Avellini, P. (2001). Use of duplex polymerase chain reaction (duplex-PCR) technique to identify bovine and water buffalo milk used in making mozzarella cheese. *Journal of Dairy Research*, 68, 689–698.
- Rehbein, H. (2005). Identification of the fish species of raw or coldsmoked salmon and salmon caviar by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. *European Food Research and Technology*, 220, 625–632.

- Robbins, L. S., Nadeau, J. H., Johnson, K. R., Kelly, M. A., Roselli-Rehfuss, L., Baack, E., et al. (1993). Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell*, 72, 827–834.
- Rouzaud, F., Martin, J., Gallet, P. F., Delourme, D., Goulemot-Leger, V., Amigues, Y., et al. (2000). A first genotyping assay of French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (MC1R). *Genetic Selection Evolution*, 32, 511–520.
- Russel, V. J., Hold, G. L., Pryde, S. E., Rehbein, H., Quinteiro, J., Rey-Méndez, M., et al. (2000). Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between Salmon species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2184–2188.
- Russo V., & Fontanesi L. (2004). Coat colour gene analysis and breed traceability. In *Proceedings of the 7th world conference of the Brown Swiss cattle breeders* (pp. 95–100).
- Sancristobal-Gaudy, M., Renand, G., Amigues, Y., Boscher, M. Y., Leveziel, H., & Bibé, B. (2000). Traçabilité individuelle des viandes bovine à l'aide de marqueurs génétiques. *INRA Production Animale*, 13(4), 269–276.
- Sasazaki, S., Itoh, K., Arimitsu, S., Imada, T., Takasuga, A., Nagaishi, H., et al. (2004). Development of breed identification markers derived from AFLP in beef cattle. *Meat Science*, 67, 275–280.
- Schwägele, F. (2005). Traceability from a European perspective. *Meat Science*, 71, 164–173.
- Searle, A. G. (1968). *Comparative genetics of coat colour in mammals*. London, United Kingdom: Logo Press Limited.
- Seideman, S. C., Koohmaraie, M., & Crouse, J. D. (1987). Factors associated with tenderness in young beef. *Meat Science*, 20, 281–291.
- Smith, G. C., Tatum, J. D., Belk, K. E., Scanga, J. A., Grandin, T., & Sofos, J. N. (2005). Traceability from a U.S. perspective. *Meat Science*, 71, 174–193.



- Shackell, G. H., Mathias, H. C., Cave, V. M., & Dodds, K. G. (2005). Evaluation of microsatellites as a potential tool for product tracing of ground beef mixtures. *Meat Science*, 70, 337–345.
- Stanford, K., Stitt, J., Kellar, J. A., & McAllister, T. A. (2001). Traceability in cattle and small ruminants in Canada. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 20(2), 510–522.
- Taylor, E. B., Beacham, T. D., & Kaeriyama, M. (1994). Population structure and identification of North Pacific Ocean chum salmon (*Oncorhynchus keta*) revealed by an analysis of minisatellite DNA variation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 1430–1442.
- Unnevehr, L. J. (2000). Food safety issues and fresh food product exports from LDCs. *Agricultural Economics*, 23, 231–241.
- Unsel, M., Beyermann, B., Brandt, P., & Hiesel, R. (1995). Identification of the species origin of highly processed meat products by mitochondrial DNA sequences. *PCR Methods and Applications*, 4, 241–243.
- Vázquez, J. F., Pérez, T., Ureña, F., Gudín, E., Albornoz, J., & Domínguez, A. (2004). Practical application of DNA fingerprinting to trace beef. *Journal of Food Protection*, 67(5), 972–979.
- Vega-Pla, J. L., Martínez, A. M., Cabello, A., Rodríguez-Gallardo, P. P., & Delgado, J. V. (2003). Preliminary study of individual assignment of Iberian pigs using DNA genetic markers. *Archivos de Zootecnia*, 52, 225–230.
- Weir, B. S. (1996). *Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Winterø, A. K., Thomson, P. D., & Davies, W. (1990). A comparison of DNA-hybridisation, immunodiffusion counter-current immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Science*, 27, 75–85.
- Wolf, C., Rentsch, J., & Hübner, P. (1999). PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA: a reliable method for species identification. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 1350–1355.

