

**AVVISI PUBBLICI REGIONALI DI ATTUAZIONE PER L'ANNO 2017 DEL
TIPO DI
OPERAZIONE 16.2.01 "SUPPORTO PER PROGETTI PILOTA E PER LO
SVILUPPO DI NUOVI
PRODOTTI, PRATICHE, PROCESSI E TECNOLOGIE NEL SETTORE
AGRICOLO E
AGROINDUSTRIALE"**

FOCUS AREA 3A DGR N. 227 DEL 27 FEBBRAIO 2017

RELAZIONE TECNICA INTERMEDIA FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO n. 5052772

DOMANDA DI PAGAMENTO n. 5158095

FOCUS AREA: 3A

Titolo Piano	Impiego di strategie alimentari innovative destinate a scrofe e suinetti volte a migliorare la sopravvivenza e la robustezza dei suini nella fasi pre- e post-svezzamento e a ridurre l'impiego di antibiotici nella filiera del suino pesante per produzioni DOP (Acronimo IMPRIPIG)
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	AGRICOLA TRE VALLI Società Cooperativa

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18
Data inizio attività (successiva alla ricezione del Decreto di concessione)	10/08/2018
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	31/01/2020

Relazione relativa al periodo di attività dal	10/08/2018	al	31/01/2020
Data rilascio relazione	28/02/2020		

Autore della relazione	Dr. Giuseppe Residori		
telefono		email	giuseppe.residori@veronesi.it

Sommario

1 -	DESCRIZIONE DELLO STATO DI AVANZAMENTO DEL PIANO	3
1.1	STATO DI AVANZAMENTO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PIANO	
2 -	DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE	4
2.1	ATTIVITÀ E RISULTATI	
2.2	PERSONALE	
2.3	TRASFERTE	
2.4	MATERIALE CONSUMABILE	
2.5	SPESE PER MATERIALE DUREVOLE E ATTREZZATURE	
2.6	MATERIALI E LAVORAZIONI DIRETTAMENTE IMPUTABILI ALLA REALIZZAZIONE DEI PROTOTIPI	
2.7	ATTIVITÀ DI FORMAZIONE	
2.8	COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI	
3 -	CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ	18
4 -	ALTRE INFORMAZIONI	18
5 -	CONSIDERAZIONI FINALI	18
6 -	RELAZIONE TECNICA	19

1 - Descrizione dello stato di avanzamento del Piano

Descrivere brevemente il quadro di insieme relativo alla realizzazione del piano.

Il Piano è stato completato entro il 31 gennaio 2020, secondo quanto previsto in domanda iniziale e nella variante presentata in data 06/12/2018 ed approvata da Codesta Regione con Determinazione n. 4535 del 13/03/2019.

1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano

Azione	Unità aziendale responsabile	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
1. Esercizio della Cooperazione	Direzione Generale ATV	Coordinamento e cooperazione	1	1	18	18
2. Studi necessari alla realizzazione del piano	Direzione Generale ATV	Studio fattibilità	1	1	3	3
3.1. Gestazione	UNIBO (DISTAL)	Prova in vivo analisi biologiche, statistica dei dati e report	2	3	7	7
3.2. Lattazione	UNIBO (DISTAL)	Prova in vivo analisi biologiche, statistica dei dati e report	7	15	7	15
3.3. Imprinting microbico	UNIBO (DISTAL)	Prova in vivo analisi biologiche, statistica dei dati e report	10	17	10	17
3.4. Additivi suini 6-30 kg	UNIBO (DISTAL)	Prova in vivo rilievi al macello, statistica dei dati e report	3	16	3	16
4. Divulgazione	Direzione Generale ATV e UNIBO (DISTAL)	Meeting tecnici e convegni tecnico-divulgativi	2	18	2	18

2 - Descrizione per singola azione

Compilare una scheda per ciascuna azione

2.1 Attività e risultati

Azione 1	Esercizio della cooperazione
Unità aziendale responsabile	Direzione Generale AGRICOLA TRE VALLI
Descrizione delle attività	<i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i> Costituzione di un Comitato di progetto che ha coinvolto i referenti aziendali, i consulenti esterni e il personale dell'Ente di ricerca prescelto (Dipartimento Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari DISTAL - Università di Bologna). Incontri in media trimestrali del Comitato per verifica stati avanzamento del lavoro e valutazione risultati in itinere. Predisposizione di una variante progettuale (approvata dalla Regione).
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i> Gli obiettivi previsti sono stati pienamente raggiunti, in quanto la cooperazione tra i soggetti coinvolti è risultata positiva, la tempistica del progetto è stata rispettata, le fasi e le attività sono state correttamente monitorate.
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

2.4 Materiale consumabile

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE - SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza esterna (parziale fattura n. 29/A1 del 10/01/2020)	5.933,32
Totale:				5.933,32

2.1 Attività e risultati

Azione 2	Studi necessari alla realizzazione del piano
Unità aziendale responsabile	Direzione Generale AGRICOLA TRE VALLI
Descrizione delle attività	<i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i> Prima di procedere con le fasi operative di realizzazione del piano, sono stati approfonditi, attraverso specifico studio di fattibilità, una serie di aspetti di carattere tecnico-organizzativo del progetto.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i> Gli obiettivi previsti sono stati pienamente raggiunti, in quanto si è arrivati alla definizione preliminare delle fasi operative dello sviluppo tecnico dell'innovazione
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

2.4 Materiale consumabile

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE - SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza (parziale fattura n. 29/A1 del 10/01/2020)	2.185,96
Totale:				2.185,96

2.1 Attività e risultati

Azione 3.1	Strategie dietetiche volte a migliorar le conoscenze dei fabbisogni alimentari in gestazione di scrofe ad elevata prolificità
Unità aziendale responsabile	UNIBO (DISTAL)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'obiettivo di tale azione era valutare l'effetto di una strategia dietetica basata sulla somministrazione di aminoacidi liberi durante la gestazione sullo sviluppo fetale e la sopravvivenza dei suinetti.</p> <p>L'azione 3.1 ha coinvolto 205 scrofe ed i rispettivi suinetti. Le scrofe sono state suddivise in due gruppi sulla base della dieta provvista: Controllo (dieta standard) e Trattato (dieta standard con aggiunta di Arginina). La salute degli animali (scrofe e rispettivi suinetti) e il loro accrescimenti (suinetti) sono stati registrati e seguiti fino allo svezzamento (termine della prova). I dati raccolti (numerosità della nidiata, omogeneità della nidiata, frequenza di suinetti sottopeso e IUGR, mortalità, performance di accrescimento dei suinetti, durata della gestazione, peso placentare) sono stati analizzati statisticamente. I campioni biologici raccolti (saliva, e feci) sono stati analizzati rispettivamente per parametri immunitari (immunoglobuline) e composizione microbiologia. I risultati ottenuti hanno riportato miglioramento del numero di suinetti nati ed una tendenza alla riduzione della percentuale di suinetti affetti da IUGR e del numero di suinetti morti nel periodo d0-d3 nel gruppo Trattato. Non sono stati osservati effetti per gli altri parametri considerati. Il trattamento inoltre non ha modificato la struttura del microbiota fecale delle scrofe ma ha aumentato l'abbondanza relativa della famiglia delle Bacteroidaceae e del genere Bacteroides. Nel complesso i risultati ottenuti hanno confermato che l'arginina svolge un ruolo chiave nella nutrizione e nella fisiologia della scrofa in gestazione senza comprometterne l'eubiosi intestinale e suggeriscono un effetto positivo sulle performance produttive. I risultati della prova in vivo e la loro interpretazione scientifica sono stati riportati in un report realizzato dall'Università di Bologna (DISTAL).</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Il raggiungimento degli obiettivi è in linea con quanto previsto nel Piano. Nel complesso sono state svolte e portate a termine tutte le attività previste per l'Azione 3 e non sono stati riscontrati scostamenti significativi delle attività rispetto a quelle inizialmente previste. I risultati della prova in vivo e la loro interpretazione scientifica sono stati riportati in un report predisposto dal dipartimento DISTAL Università di Bologna. Per le prove 3.1, 3.2 e 3.3 sono stati inclusi nella prova un numero leggermente inferiore di animali, al fine di rendere la prova più sostenibile per gli allevamenti coinvolti, ma pur sempre senza ridurre la potenza statistica dei test.</p> <p>Nello specifico, l'azione 3.1 ha permesso di valutare l'effetto della supplementazione di arginina nella dieta di scrofe iperprolifiche in fase di gestazione ed i risultati ottenuti hanno evidenziato che l'arginina svolge un ruolo chiave nella nutrizione e nella fisiologia della scrofa in gestazione senza comprometterne l'eubiosi intestinale e suggeriscono un effetto positivo sulle performance produttive (+ 8% sulla sopravvivenza dei suinetti e + 7.7% sul numero di nati per scrofa) anche a una bassa dose di integrazione. Non sono</p>

	state rilevate criticità di tipo tecnico-scientifico durante lo svolgimento della prova.
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

2.4 Materiale consumabile

Le marche auricolari (previste nel piano dei costi del progetto) sono state direttamente fornite dalla società LA PELLEGRINA (tramite il fornitore VERONAVET Spa), senza quindi oneri sostenuti dall'azienda beneficiaria Agricola Tre Valli

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Università di Bologna – DISTAL		134.606,50	Attività di consulenza (parziale fatture n. 310/2018, 268/2019, 443/2019)	42.729,10

Soc.Agr. La Pellegrina Spa	Dr. Giampietro Sandri	58.519,60	Attività di consulenza esterna veterinaria e di tecnici di allevamento (parziale fattura n.29/A1 del 10/01/2020)	18.713,24
Totale:				61.442,34

2.1 Attività e risultati

Azione 3.2	Strategie dietetiche volte a migliorare le conoscenze dei fabbisogni alimentari nel peri-parto di scrofe ad elevata prolificità
Unità aziendale responsabile	UNIBO (DISTAL)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Lo scopo principale di tale prova è stato di verificare l'efficacia di una dieta arricchita con aminoacidi liberi sulla sopravvivenza e le performance della nidiata. Inoltre, si è verificata l'incidenza della dieta sulle caratteristiche fisiologiche e produttive della scrofa nel periodo del peri-parto.</p> <p>L'azione 3.2 ha coinvolto 147 scrofe ed i rispettivi suinetti. Le scrofe sono state suddivise in due gruppi sulla base della dieta somministrata durante il periodo di periparto: Controllo (dieta standard) e Trattato (dieta standard con aggiunta di Treonina (Thr), Triptofano (Trp) e Valina (Val)). La salute degli animali (scrofe e rispettivi suinetti) e il loro accrescimenti (suinetti) sono stati registrati e seguiti fino allo svezzamento (termine della prova). I dati raccolti (numerosità della nidiata, omogeneità della nidiata, mortalità, performance di accrescimento dei suinetti, spessore del lardo e del muscolo dorsale delle scrofe) sono stati analizzati statisticamente. I campioni biologici raccolti (colostro, saliva, e feci) sono stati analizzati rispettivamente per composizione (colostro), parametri immunitari (saliva e colostro) e composizione microbiologia (feci). I risultati ottenuti hanno mostrato la riduzione del numero di suinetti morti durante il periodo di allattamento nel gruppo Trattato ed un aumento della concentrazione di immunoglobuline A nel colostro del gruppo Trattato. Non vi sono state modifiche per gli altri parametri considerati. In conclusione la dieta arricchita con aminoacidi di sintesi (Triptofano, Treonina e Valina) nel peri-parto, ha ridotto il numero di suinetti morti sottoscrofa e tale effetto si può attribuire ad un aumento delle immunoglobuline (IgA) nel colostro. Per il microbiota non si sono evidenziate differenze, questo può essere dovuto al fatto che la dieta è stata somministrata per un periodo relativamente breve. La definizione di diete per il peri-parto rientra all'interno della strategia di formulazione di precisione tipiche di una suinicoltura sostenibile. I risultati della prova in vivo e la loro interpretazione scientifica sono stati riportati in un report realizzato dall'Università di Bologna (DISTAL).</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>L'azione 3.2 ha permesso di valutare l'effetto di dieta arricchita con aminoacidi di sintesi (Triptofano, Treonina e Valina) nel peri-parto sulle performance produttive della scrofa. I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'integrazione con specifici aminoacidi alla dieta della scrofa nel periodo del peri-parto può favorire una riduzione della mortalità dei suinetti sottoscrofa (-</p>

	35%) e tale effetto si può attribuire ad un aumento delle immunoglobuline (IgA) nel colostro. Non sono state rilevate criticità di tipo tecnico-scientifico durante lo svolgimento della prova.
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Elencare il personale impegnato, il cui costo è portato a rendiconto, descrivendo sinteticamente l'attività svolta. Non includere le consulenze specialistiche, che devono essere descritte a parte.

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

2.4 Materiale consumabile

Le marche auricolari (previste nel piano dei costi del progetto) sono state direttamente fornite dalla società LA PELLEGRINA (tramite il fornitore VERONAVET Spa), senza quindi oneri sostenuti dall'azienda beneficiaria Agricola Tre Valli

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Università di Bologna – DISTAL		134.606,50	Attività di consulenza (parziale fatture n. 310/2018, 268/2019, 443/2019)	38.015,60
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza esterna veterinaria e di tecnici di allevamento (parziale fattura n.29/A1 del 10/01/2020)	23.693,48
Totale:				61.709,08

2.1 Attività e risultati

Azione 3.3	Migliorare la robustezza degli animali promovendo l'eubiosi del tratto gastro-intestinale nei lattonzoli
Unità aziendale responsabile	UNIBO (DISTAL)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Lo scopo principale della prova era di valutare l'efficacia della somministrazione orale con inoculo batterico in suinetti neonati nel migliorarne la salute nella fase lattazione-svezzamento.</p> <p>Lo studio ha coinvolto 820 suinetti, nati da 64 scrofe. Alla nascita i suinetti sono stati divisi in 4 gruppi (204 suinetti gruppo): i) Controllo, ii) Probiotico A, iii) Probiotico B e iv) Probiotico A + Probiotico B. Entro 48 ore dalla nascita (T0), ai suinetti di ognuno dei 4 gruppi sperimentali, è stata somministrata per os una soluzione di 4 mL in cui era sospeso il probiotico definito o con acqua sterile per il gruppo di controllo. La salute e l'accrescimento dei suinetti è stata seguita e registrata fino allo svezzamento. Durante la prova sono stati prelevati tamponi fecali da scrofe e suinetti per l'analisi della composizione microbiologica. I dati raccolti (numerosità della nidata, omogeneità della nidata, mortalità, performance di accrescimento dei suinetti) sono stati analizzati statisticamente. Nel complesso la somministrazione di probiotici per os entro le 48 ore dalla nascita ha portato a un miglioramento dei parametri di accrescimento dei suinetti sia nella prima settimana di vita che allo svezzamento. Il Probiotico A ha mostrato una tendenza a ridurre la mortalità e l'esclusione dei suinetti dalla prova durante il periodo di pre-svezzamento. La somministrazione sinergica di entrambi i probiotici non ha mostrato effetti positivi sui parametri di salute e performance. Nel complesso la somministrazione precoce di un inoculo probiotico favorisce la robustezza dei lattonzoli, promuovendo la loro eubiosi intestinale. I risultati della prova in vivo e la loro interpretazione scientifica sono stati riportati in un report realizzato dall'Università di Bologna (DISTAL).</p>

<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>L'azione 3.3 ha permesso di valutare l'efficacia di una somministrazione orale con inoculo batterico in suinetti neonati nel migliorarne la salute nella fase di allattamento. Nel complesso la somministrazione precoce di un inoculo probiotico ha favorito la robustezza dei lattonzoli, promuovendo l'eubiosi intestinale, riducendo la mortalità (-60% per uno dei due probiotici) e migliorando le performance di crescita (+64% per entrambi i probiotici rispetto al gruppo di controllo). Questa prova sarebbe dovuta terminare con il rilevamento ponderale di un sottogruppo di soggetti a due settimane dopo lo svezzamento. A causa dello stato sanitario non ottimale di una parte delle nidiatae presenti in allevamento (indipendenti dalla prova stessa), in accordo con il capofila si è deciso di non pesare i suini in questa fase al fine di evitare ulteriori stress agli animali, sono invece stati raccolti come previsto i dati relativi alle mortalità ed ai trattamenti antibiotici in tale fase.</p>
<p>Attività ancora da realizzare</p>	<p><i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i></p>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

Non previste

2.4 Materiale consumabile

Le marche auricolari (previste nel piano dei costi del progetto) sono state direttamente fornite dalla società LA PELLEGRINA (tramite il fornitore VERONAVET Spa), senza quindi oneri sostenuti dall'azienda beneficiaria Agricola Tre Valli

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

Non previste

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE - SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Università di Bologna – DISTAL		134.606,50	Attività di consulenza (parziale fatture n. 310/2018, 268/2019, 443/2019)	26.034,10
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza esterna veterinaria e di tecnici di allevamento (parziale fattura n.29/A1 del 10/01/2020)	1.905,84
Totale:				27.939,94

2.1 Attività e risultati

Azione 3.4	Strategie alimentari volte a ridurre l'insorgenza della sindrome diarroica post-svezzamento nel suinetto
Unità aziendale responsabile	UNIBO (DISTAL)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Lo scopo principale di tale prova è stata la valutazione dell'efficacia di un'integrazione del mangime da svezzamento con un probiotico nel favorire lo stato di salute del suinetto nella fase di post-svezzamento.</p> <p>La prova ha coinvolto in totale 3016 suinetti svezzati al giorno 23 ± 2. Il giorno dello svezzamento i suinetti sono stati suddivisi in due gruppi di pari numero: Controllo (dieta standard) e Trattato (Dieta standard con supplementazione di inoculo probiotico). La salute, ed i trattamenti sanitari sono stati registrati per tutti i soggetti in prova. Il peso dei suinetti è stato rilevato individualmente per 194 suinetti/gruppo fino al termine dell'allevamento in sito 2 (circa 30 kg di peso vivo). Durante la permanenza nel sito 2 è stato registrato il consumo alimentare. Gli animali sono stati in seguito accasati tutti nello stesso sito 3 ed alimentati con la stessa dieta tipica della fase di accrescimento-ingrasso. Infine, gli animali sono stati macellati a 272 giorni (9 mesi) dall'inizio della prova; al macello sono stati raccolti i seguenti dati: peso della carcassa, resa percentuale dei vari tagli commerciali e percentuale di carne magra e di grasso della carcassa e dei vari tagli commerciali ed i dati ottenuti dallo strumento ImageMeater. I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente. I risultati ottenuti hanno mostrato che la somministrazione di probiotico nella fase di svezzamento ha permesso una riduzione dell'impiego d'antibiotico nelle prime</p>

	due settimane dopo lo svezzamento senza modificare le performance di crescita. La mortalità ed i parametri rilevati al macello non sono risultati differire tra i due gruppi. I risultati della prova in vivo e la loro interpretazione scientifica sono stati riportati in un report realizzato dall'Università di Bologna (DISTAL).
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i> L'azione 3.4 ha permesso di valutare l'efficacia di un'integrazione del mangime da svezzamento con un probiotico nel favorire lo stato di salute del suinetto nella fase di post-svezzamento. Nel complesso l'integrazione del mangime con il probiotico ha ridotto gli interventi antibiotici nella prima fase di svezzamento (1 trattamento di massa in meno e -8.5% di trattamenti antibiotici individuali rispetto al gruppo controllo) senza tuttavia influenzare la mortalità ed i parametri di accrescimento nelle fasi di vita successive dei suini. Non sono invece stati rilevati effetti significativi sui parametri rilevati in fase di macellazione. Non sono state rilevate criticità di tipo tecnico-scientifico durante lo svolgimento della prova.
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

Non previste

2.4 Materiale consumabile

Le marche auricolari (previste nel piano dei costi del progetto) sono state direttamente fornite dalla società LA PELLEGRINA (tramite il fornitore VERONAVET Spa), senza quindi oneri sostenuti dall'azienda beneficiaria Agricola Tre Valli

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

Non previste

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Università di Bologna – DISTAL		134.606,50	Attività di consulenza (parziale fatture n. 310/2018, 268/2019, 443/2019)	11.877,70
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza esterna veterinaria e di tecnici di allevamento (parziale fattura n.29/A1 del 10/01/2020)	1.715,84
Totale:				13.593,54

2.1 Attività e risultati

Azione 4	Divulgazione
Unità aziendale responsabile	Direzione Generale AGRICOLA TRE VALLI e UNIBO (DISTAL)
Descrizione delle attività	<i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i> All'inizio ed al termine del progetto sono stati effettuati due meeting tecnici per gli operatori e i tecnici del progetto. Il primo meeting è stato svolto in data 19.09.2018: in questa occasione, sono stati presentati gli obiettivi del progetto e le fasi di articolazione dell'iniziativa. Il secondo meeting è stato svolto in data 15.01.2020 presso il macello del Gruppo Veronesi a Magreta (MO). Durante il meeting sono stati presentati i risultati di tutte le prove svolte e si è tenuta una discussione con i tecnici e gli allevatori della filiera. I risultati del progetto sono stati presentati al convegno tecnico-divulgativo dedicato alle figure professionali ed ai portatori di interesse della filiera del suino: "Strategie alimentari per migliorare la sopravvivenza dei suini nelle fasi pre- e post-svezzamento nella filiera del suino pesante" tenutosi in data 29/01/2020 presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL) dell'Università di Bologna. È stato pubblicato un articolo divulgativo sulla Rivista di Suinicoltura (Gennaio 2020 - Numero speciale della fiera di Verona). È stato inviato un abstract per comunicazione scientifica dei risultati ottenuti durante la prova sperimentale relativa all'azione 3.1 a convegno nazionale SIPAS. È stato sottomesso un articolo scientifico in lingua inglese dei risultati ottenuti durante la prova sperimentale relativa all'azione 3.1 per pubblicazione nella rivista indicizzata Italian Journal of Animal Science.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i> Il raggiungimento degli obiettivi è in linea con quanto previsto nel Piano. Tutte le attività di divulgazione sono state portate a termine e non sono state evidenziate criticità.
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

2.2 Personale

Non previsto personale interno di Agricola Tre Valli

2.3 Trasferte

Non previste

2.4 Materiale consumabile

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

Non previste

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Non previsto

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Non previste

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Non previste

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Università di Bologna – DISTAL		134.606,50	Attività di divulgazione (parziale fatture n. 310/2018, 268/2019, 443/2019)	15.950,00
Soc.Agr. La Pellegrina Spa		58.519,60	Attività di consulenza esterna veterinaria e di tecnici di allevamento (parziale fattura n.29/A1 del 10/01/2020)	4.371,92
Totale:				20.321,92

3 - Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività

Lunghezza max 1 pagina

Criticità tecnico-scientifiche	Nel complesso non sono state rilevate criticità tecnico-scientifiche rilevanti. Tutte le attività previste dal Piano sono state effettuate ed hanno permesso di raggiungere gli obiettivi inizialmente pianificati.
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	Nel complesso non sono state rilevate criticità gestionali.
Criticità finanziarie	Non sono state rilevate criticità finanziarie.

4 - Altre informazioni

Riportare in questa sezione eventuali altri contenuti tecnici non descritti nelle sezioni precedenti

Per contenuti tecnici più approfonditi, si rimanda al report descrittivo delle prove realizzate nelle Azioni 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 e alla relazione sulle attività Divulgative (Azione 4), predisposto dal Dipartimento DISTAL Università di Bologna, in collaborazione con Soc.Agr. La Pellegrina SpA.
--

5 - Considerazioni finali

Riportare qui ogni considerazione che si ritiene utile inviare all'Amministrazione, inclusi suggerimenti sulle modalità per migliorare l'efficienza del processo di presentazione, valutazione e gestione di proposte da cofinanziare

L'iniziativa si è rivelata particolarmente utile, rappresentando un valore aggiunto per il proponente, nonché per il progetto di filiera PSR (F61) in cui il Piano di Innovazione si inserisce.

6 - Relazione tecnica

DA COMPILARE SOLO IN CASO DI RELAZIONE FINALE

Descrivere le attività complessivamente effettuate, nonché i risultati innovativi e i prodotti che caratterizzano il Piano e le potenziali ricadute in ambito produttivo e territoriale

Il progetto di filiera F61, con capofila AGRICOLA TRE VALLI nel settore Carni Suine, è stato svolto con finalità di favorire ricadute positive sulla base agricola di riferimento, attraverso investimenti dedicati ad una maggiore efficienza, sostenibilità ambientale e benessere animale degli allevamenti e ad un incremento degli standard qualitativi delle successive fasi di trasformazione e stagionatura, in termini di salubrità e qualità intrinseca dei prodotti finiti, permettendo una valorizzazione della filiera destinata al Prosciutto di Parma DOP.

In questo contesto si è inserita l'iniziativa del Piano di Innovazione ai sensi dell'Op.16.2.01

Attività complessivamente effettuate

Come previsto per l'Azione 3 del Piano sono state realizzate e correttamente portate a termine 4 prove sperimentali in vivo che hanno coinvolto aziende agricole ed un macello affiliate al gruppo Agricola TreValli ed il partner scientifico UNIBO (DISTAL).

Nel dettaglio, l'**Azione 3.1**: "Strategie dietetiche volte a migliorar le conoscenze dei fabbisogni alimentari in gestazione di scrofe ad elevata prolificità ha previsto lo svolgimento di una prova in vivo che ha coinvolto 205 scrofe ed i rispettivi suinetti. Durante la prova le scrofe sono state alimentate con dieta standard o dieta standard con aggiunta di Arginina. La salute degli animali (scrofe e rispettivi suinetti) e il loro accrescimenti (suinetti) sono stati registrati e seguiti fino allo svezzamento (termine della prova). I dati raccolti (numerosità della nidiata, omogeneità della nidiata, frequenza di suinetti sottopeso, incidenza di suinetti IUGR, mortalità, performance di accrescimento dei suinetti, durata della gestazione, peso placentare) sono stati analizzati statisticamente. I campioni biologici raccolti (saliva, e feci) sono stati analizzati rispettivamente per parametri immunitari (immunoglobuline) e composizione microbiologia. I risultati ottenuti hanno riportato miglioramento del numero di suinetti, la riduzione della percentuale di soggetti IUGR e del numero di suinetti morti a d0-d3 nel gruppo di scrofe alimentato con il supplemento di Arginina. Nel complesso i risultati ottenuti hanno confermato che l'arginina svolge un ruolo chiave nella nutrizione e nella fisiologia della scrofa in gestazione senza comprometterne l'eubiosi intestinale e suggeriscono un effetto positivo sulle performance produttive. L'azione **Azione 3.2** "Strategie dietetiche volte a migliorare le conoscenze dei fabbisogni alimentari nel peri-parto di scrofe ad elevata prolificità ha previsto lo svolgimento di una prova in vivo che ha coinvolto 147 scrofe ed i rispettivi suinetti. Le scrofe sono state suddivise in due gruppi sulla base della dieta somministrata durante il periodo di periparto: Controllo (dieta standard) e Trattato (dieta standard con aggiunta di Treonina (Thr), Tryptofano (Trp) e Valina (Val)). La salute degli animali (scrofe e rispettivi suinetti) e il loro accrescimenti (suinetti) sono stati registrati e seguiti fino allo svezzamento (termine della prova). I campioni biologici raccolti colostro, saliva, e feci sono stati analizzati rispettivamente per composizione e parametri immunitari (immunoglobuline), immunoglobuline e composizione microbiologia. I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente ed i risultati ottenuti hanno mostrato che una dieta specifica durante il periodo di peri-parto permette di ridurre il numero di suinetti morti sottoscrofa e tale effetto si può attribuire ad un aumento delle immunoglobuline (IgA) nel colostro. La prova sperimentale inclusa nell'**Azione 3.3** "Migliorare la robustezza degli animali promovendo l'eubiosi del tratto gastrointestinale nei lattonzoli ha coinvolto 820 suinetti, nati da 64 scrofe. Alla nascita ai suinetti sono stati inoculati due diversi inoculi probiotici o il mix di questi; i dati relativi a performance di accrescimento, mortalità e stato di benessere sono stati comparati con suinetti che non avevano ricevuto alcun inoculo probiotico. I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente ed i risultati ottenuti hanno dimostrato che la somministrazione di probiotici per os entro 48 ore dalla nascita può favorire l'accrescimento dei suinetti sia nella prima settimana di vita che al

termine del periodo di allattamento e ridurre la mortalità dei suinetti durante il periodo di pre-svezzamento, promuovendo nel complesso la robustezza dei lattonzoli e la loro eubiosi intestinale. Infine la prova sperimentale inclusa nell'**Azione 3.4** "Strategie alimentari volte a ridurre l'insorgenza della sindrome diarroica post-svezzamento nel suinetto" ha coinvolto in totale 3016. Durante la prova è stata testata l'efficienza della probiosi nel periodo post-svezzamento ed i suoi effetti sulla salute e l'accrescimento dei suinetti sono stati valutati fino alla fase di macellazione. I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente. I risultati ottenuti hanno mostrato che la somministrazione di probiotici nella fase di svezzamento ha permesso una riduzione dell'impiego d' antibiotico nelle prime due settimane dopo lo svezzamento senza modificare le performance di accrescimento. La mortalità ed i parametri rilevati al macello non sono risultati differire tra i due gruppi.

I risultati ottenuti dalle diverse prove sperimentali sono stati divulgati attraverso meeting tecnici, un evento tecno-scientifico e la produzione di articoli pubblicati su riviste legate al settore suinicolo e con rilievo scientifico internazionale.

Risultati innovativi ottenuti

I risultati ottenuti attraverso le prove sperimentali eseguite hanno permesso di valutare l'effetto di interventi nutrizionali ed alimentari in diverse fase produttive del suino pesante ed hanno dimostrato l'efficacia di taluni interventi sulle performance produttive, sulla robustezza degli animali e sulla possibilità di riduzione degli interventi antibiotici, contribuendo all'individuazione di strategie volte a migliorare il benessere degli animali e la sostenibilità della produzione suinicola.

Nel dettaglio, le prove sperimentali svolte all'interno delle azioni 3.1 e 3.2 hanno permesso di evidenziare le proprietà della supplementazione in specifici amminoacidi rispettivamente nelle fasi di gestazione e di peri-parto sulle performance produttive delle scrofe e sulla robustezza delle proprie nidiate. I fabbisogni in amminoacidi durante le fasi di gestazione e lattazione hanno un ruolo rilevante, non solo per il loro contributo alla deposizione del tessuto muscolare e come costituenti delle proteine, ma, a seconda delle necessità dell'organismo, possono essere coinvolti in numerosi processi fisiologici; in particolare possono favorire un'adeguata vasculogenesi e angiogenesi che risulta necessaria per garantire l'irrorazione sanguinea della placenta, indispensabile per il corretto sviluppo dei feti e possono ricoprire un ruolo cruciale nella produzione di immunoglobuline per il colostro e il latte, cruciali per garantire robustezza al suinetti neonato. I risultati ottenuti delle due prove sperimentali hanno dimostrato che strategie dietetiche specifiche e ottimizzate per la gestione delle scrofe in diverse fasi dell'allevamento concorrono a migliorare l'intero processo produttivo e promuovono un "approccio di continuità", secondo il quale ogni evento caratterizzante una fase produttiva si ripercuote sulle fasi successive di vita dell'animale.

Le prove sperimentali svolte nelle azioni 3.3 e 3.4 hanno permesso di testare l'efficacia di strategia probiotiche nel migliorare e promuovere la salute gastrointestinale dei suinetti, contribuendo al miglioramento della robustezza e del benessere dei suinetti durante le diverse fasi produttive. Nello specifico, l'azione 3.3 ha permesso di evidenziare come un intervento individuale e puntale in fase precoce di vita con la somministrazione di probiotici è in grado di favorire la robustezza dei suinetti nelle fasi successive di accrescimento, favorendo la sopravvivenza dei soggetti (benessere) e migliorando le performance produttive. Tali risultati hanno permesso di identificare una soluzione tecnica mirata per promuovere il benessere animale, che risulta strettamente collegato ad un minor impiego di antibiotici. Il contributo dell'impiego di strategie probiotiche nel ridurre l'impegno di antibiotici è inoltre stato evidenziato anche nella prova sperimentale 3.4, nella quale l'efficacia della somministrazione probiotica è stata testata dalla fase di svezzamento fino alla fase di macellazione del suino pesante italiano.

Prodotti che caratterizzano il Piano

Il Piano di Innovazione, ha permesso di sviluppare conoscenze specifiche per la filiera del suino pesante DOP del prosciutto di Parma, principale obiettivo del Piano, fornendo strumenti mirati per sviluppare strategie integrate di filiera. Ha permesso di migliorare le conoscenze dei fabbisogni nutritivi e amminoacidici della scrofa in gestazione e lattazione per promuovere il positivo sviluppo e la

sopravvivenza della nidiata (+ 8% azione 3.1 +35% nell'azione 3.2). Ha inoltre evidenziato il positivo effetto di strategie probiotiche in fase precoce per migliorare la robustezza ed il benessere dei suinetti nelle fasi successive (- 60% della mortalità per uno dei due probiotici utilizzati nell'azione 3.3; e + 63% di IPG per i suinetti supplementati con probiotico rispetto al controllo nell'azione 3.3), contribuendo alla riduzione degli interventi antibiotici (1 trattamento di massa in meno e -8.5% trattamenti antibiotici individuali rispetto al controllo nell'azione 3.4). Il Piano ha pertanto permesso di definire interventi specifici per migliorare la produzione del suino dalla fase di gestazione a quella di macellazione. Inoltre il presente Piano ha contribuito a valorizzare il lavoro sinergico tra enti pubblici e privati per rispondere a esigenze concrete con l'applicazione di un metodo scientifico rigoroso.

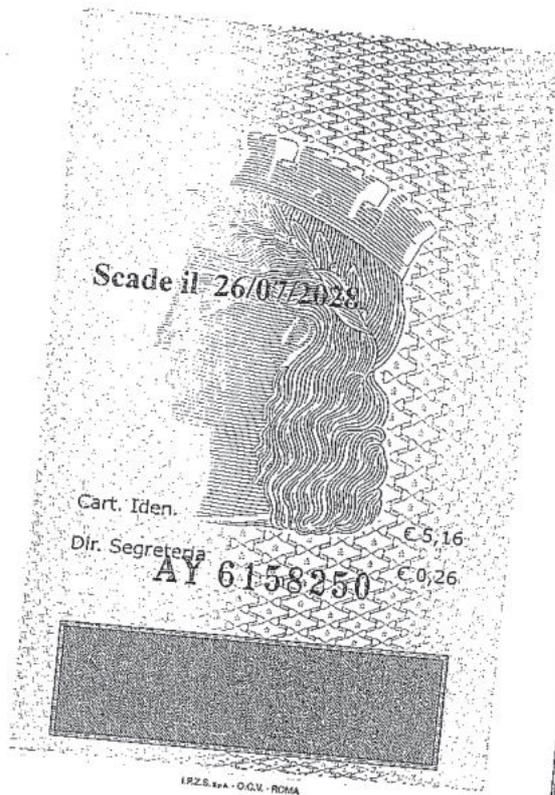
Ricadute in ambito produttivo e territoriale

Nel complesso i risultati ottenuti dal Piano di Innovazione hanno permesso di individuare strategie mirate in grado di produrre ricadute produttive, economiche, ambientali e sociali. La supplementazione con specifici amminoacidi nelle fasi di peri-parto e lattazione e l'impegno di probiosi in fase precoce di vita sono risultati degli strumenti concreti per gli allevatori, per migliorare la loro produttività. Tali strategie alimentari hanno infatti promosso la sopravvivenza dei suinetti e migliorato il loro accrescimento, che è essenziale per ridurre le tare produttive, rispettare i pesi target delle diverse fasi produttive e aumentare la scelta della selezione di cosce ottimali destinate alle DOP. Oltre ad avere delle ricadute produttive, appena evidenziate, l'applicazione di tali strategie alimentare può contribuire ad avere delle ricadute di tipo economico, strettamente collegate a quelle produttive (perdita inferiore). Un ulteriore vantaggio di tipo economico, evidenziato dagli interventi testati è da associare alla riduzione di impiego di farmaci nell'intero ciclo produttivo del suino pesante che può rappresentare un valido contributo per l'implementazione di certificazione di qualità della quale potranno beneficiare tutti gli allevatori coinvolti nella filiera. La riduzione di impiego di antibiotici permette inoltre una ricaduta di tipo ambientale e sociale; infatti come ormai noto, l'uso eccessivo e/o improprio di antibiotici, è associato alla dispersione di principi attivi nell'ambiente, oltre che all'insorgenza e diffusione dell'antibiotico resistenza (AMR). L'impegno delle strategie individuate permetterà dunque di soddisfare le aspettative del consumatore, aumentando l'accettabilità sociale della produzione di carne suina. Inoltre il miglioramento della produttività e dell'efficienza delle diverse fasi di allevamento potranno contribuire ulteriormente al miglioramento della sostenibilità ambientale in quanto la riduzione dell'incidenza di mortalità e di malattie ed il miglioramento della robustezza degli animali consentiranno di produrre lo stesso numero di suinetti riducendo il numero di scrofe e riducendo pertanto la quantità di alimento e di acqua necessari per la produzione.

Le conoscenze scaturite dagli interventi alimentari selezionati e l'esperienza acquisita dai partner potranno essere condivisi con altri allevatori e figure coinvolte nella filiera così da intraprendere lo stesso percorso dei partner di progetto.

Data 28/02/2020

IL LEGALE RAPPRESENTANTE
AGRICOLA TRE VALLI Società Cooperativa



Cognome RESIDORI

Nome GIUSEPPE

nato il 26/07/1960

(atto n. 39 p. I s. A)

a SOMMACAMPAGNA (VR)

Cittadinanza ITALIANA

Residenza SOMMACAMPAGNA (VR)

Via Via DEGLI ALPINI Num. 8

Stato civile CONIUGATO

Professione DIRIGENTE D'AZIENDA

CONNOTATI E CONTRASSEGNI SALIENTI

Statura 173 cm

Capelli BRIZZOLATI

Occhi CELESTI

Segni particolari _____



Firma del titolare Giuseppe Residori

SOMMACAMPAGNA - 01/09/2017

Impronta del dito indice sinistro

ORDINE DEL SINDACO

SECRETARIA

€ 5,16
CARTA D'IDENTITÀ

€ 0,26
SEGRETARIA

REPORT FINALE

PSR AGRICOLA TRE VALLI

AZIONE 3.1

Strategie dietetiche volte a migliorare le conoscenze dei fabbisogni alimentari in gestazione di scrofe ad elevata prolificità

Prof. Paolo Trevisi e Prof. Paolo Bosi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari - Università di Bologna

Introduzione

Le moderne linee genetiche di suini sono caratterizzate da elevata prolificità, ma questo va a discapito spesso di una maggiore disomogeneità ponderale dei singoli individui con una percentuale superiore di animali sottopeso (< 1 kg) (Yuan et al. 2015). Quest'ultimo fattore è correlato positivamente al tasso di mortalità e morbilità nel periodo nascita-svezzamento. Il minore peso alla nascita è infatti associato ad una ridotta vitalità ed a una minore maturità fisiologica (Yuan et al. 2015). In aggiunta ai problemi evidenziati, si è rilevata, soprattutto per le scrofe ad elevata prolificità, l'incapacità di produrre colostro e latte di quantità e qualità adeguate per sostenere i fabbisogni nutritivi di tutti i suinetti nati (Theil and Hurley 2016).

Per quanto riguarda lo sviluppo fetale dei suinetti, un'adeguata vasculogenesi e angiogenesi è necessaria per garantire l'irrorazione sanguinea della placenta, ciò è indispensabile per il corretto sviluppo dei feti ed una riduzione del tasso di mortalità embrionale. In tale ottica, recenti lavori hanno dimostrato come l'integrazione di L-Arginina (L-Arg) nella fase finale di gestazione della scrofa, abbia favorito la sopravvivenza embrionale, il numero di nati ed il peso alla nascita (Gonçalves et al., 2016), così come il numero di nati morti e sotto peso (Nuntapaitoon et al., 2018). Effetti positive dell'ingraziane con L-Arg nella fase terminale della dieta della scrofa sono inoltre stati riscontrati nei pesi della progenie e nella mortalità nel periodo pre e post svezzamento (Hines et al., 2019).

Tradizionalmente considerato un AA dispensabile sia per la crescita post-pubertale che durante la gestazione nei suini (Easter et al., 1974), Arg è stato recentemente riclassificato come

amminoacido essenziale per le scrofe gestanti (NRC, 2012). Inoltre, l'Arg è coinvolta in diversi processi fisiologici quali il metabolismo lipidico in gestazione e la produzione di poliammine e ossido nitrico (effetto stimolante per l'angiogenesi placentare) in qualità di precursore di tali processi (Wu et al., 2017).

L'arginina è inoltre considerato un amminoacido essenziali per i suinetti in fase neonatale in quanto la quantità di Arg presente nel latte e non è sempre presente in quantità sufficienti (Wu et al., 2014).

Nonostante l'evidenza dell'utilità Arg nel feto in via di sviluppo e nei suinetti in fase post natale il beneficio dell'alimentazione della scrofa con supplemento di Arg nelle fasi terminale di gestazione, il suo effetto durante l'intero periodo di gestazione in contesti commerciali risulta ancora poco studiato.

Obiettivo

L'obiettivo di questo studio è stato quello di verificare l'efficacia di una dieta arricchita con Arg rispetto alla dieta standard, somministrata alle scrofe durante l'intero periodo di gestazione, sul numero di suinetti nati, nati vivi e malformati, l'equilibrio microbico intestinale delle scrofe e la loro risposta in immunità umorale, e sulle loro prestazioni materne, valutate in termini di sopravvivenza, peso ed omogeneità della nidiata allo svezzamento.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato condotto nella scrofaia associata al Progetto di filiera Tre Valli (Tenuta Pasina di Veneri Maurizio, a Riolo Terme RA) finanziato nell'ambito del PSR dell'Emilia-Romagna. La scrofaia ospita circa 800 scrofe ed il ciclo produttivo avviene su bande bi-settimanali di circa 80 scrofe/banda.

Formulazione delle diete e gruppi sperimentali

La prova ha coinvolto tre bande successive, rispettivamente di 58 scrofe nella banda 1, 72 scrofe nella banda 2 e 75 nella banda 3 per un totale di 205 animali. Al momento dell'ingresso in box di fecondazione, ogni banda è stata suddivisa in due gruppi, bilanciati per ordine di parto:

- (i) Gruppo controllo (CON) ha ricevuto la dieta costituita dalla formula normalmente utilizzata in allevamento durante la gestazione (**Tabella 1**). Il livello di arginina in questa dieta era fornito dalle materie prime di base e non era oggetto di restrizione in formulazione. Il livello di inclusione degli altri aminoacidi essenziali è stato individuato rispettando i fabbisogni del National Research Council americano (2012);
- (ii) Gruppo trattato (ARG), ha ricevuto la stessa dieta del gruppo CON in cui però il contenuto di Arginina è stato aumentato di 0,25 punti percentuali rispetto alla formulazione correntemente in uso, mediante l'uso di arginina di sintesi. Un aumento

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

di 0,25 punti nel mangime rientra nell'intervallo più favorevole per le prestazioni di gestazione riscontrabile nella letteratura attuale (Palencia et al., 2018).

La dieta è stata differenziata tra i due gruppi sperimentali dall'ingresso in box di fecondazione ed è stata somministrata con sistema automatico, secondo il piano alimentare normalmente utilizzato in azienda, per tutto il periodo gestazionale. Le due diete sono state somministrate complessivamente a 102 scrofe per il gruppo CON e a 103 scrofe del gruppo ARG, per un totale di 205 scrofe in prova.

Tabella 1. Caratteristiche analitiche calcolate del mangime di gestazione, dieta di controllo

Energia metabolizzabile	Kcal/kg	2919.1
Energia netta	Kcal/kg	2128.9
Protidi	%	13.90
Lipidi	%	4.61
Fibra	%	6.00
Ceneri	%	5.20
Calcio	%	0.76
Fosforo Tot.	%	0.55
Fosforo Disp.	%	0.36
Metionina	%	0.27
Met+Cis	%	0.53
Lisina	%	0.69
Treonina	%	0.55
Arginina	%	0.77
Valina	%	0.63
Triptofano	%	0.17
Isoleucina	%	0.48
Leucina	%	0.99
Istidina	%	0.34
Fenilalanina	%	0.61
Glicina	%	0.61
Amido	%	36.55

Rilevamenti e campionamenti

Al parto, su tutte le scrofe è stato rilevato il peso della placenta, per verificare eventuali effetti della dieta sullo sviluppo placentare, e la morfologia del cranio dei suinetti utilizzando il metodo di punteggio codificato nel progetto Europeo PROHEALTH, per distinguere eventuali suinetti che avessero subito una restrizione intrauterina della crescita (IUGR = intrauterine growth retardation). Sono inoltre stati raccolti i dati relativi alla numerosità della nidiata, mortalità e le

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

cause associate ad essa. Da un sottogruppo di costituito rispettivamente 62 scrofe del gruppo CON e 63 scrofe del gruppo ARG, bilanciate per ordine di parto, cui è stato registrato il peso individuale dei suinetti alla nascita (P0) e allo svezzamento (P1). In **Tabella 2** si riporta la ripartizione dei due gruppi e dei loro sottogruppi nei diversi ordini di parto.

Infine per valutare l'effetto della dieta sull'immunità ed sulla composizione fecale del microbiota delle scrofe, nei due/ tre giorni precedenti il parto, da 36 scrofe/dieta, bilanciate per ordine di parto, è stato prelevato un campione di saliva, per l'analisi delle immunoglobuline (Igs) a circa 2 ore dal pasto del mattino e un campione rettale per la caratterizzazione del profilo microbico.

Tabella 2 – Distribuzione delle scrofe in prova entro ordine di parto.

Intero campione

Dieta	Ordine di parto									Totale
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
CON	29	20	10	19	7	5	7	1	4	102
ARG	24	27	11	8	12	9	7	4	1	103
Totale	53	47	21	27	19	14	14	5	5	205

Sotto-campione per controllo pesi vivi suinetti

Dieta	Ordine di parto									Totale
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
CON	16	12	9	10	5	3	4	1	2	62
ARG	13	14	8	7	8	6	4	2	1	63
Totale	29	26	17	17	13	9	8	3	3	125

Analisi Immunoglobuline

Le analisi delle Immunoglobuline (Igs) A (IgA) e G (IgG) sono state effettuate tramite il test immunoenzimatico ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) utilizzando gli anticorpi suino-specifici goat anti-pig IgA/IgG-affinity purified e goat anti-pig sIgA/sIgG-HRP conjugate (BETHYL Laboratories, Montgomery, TX) ed il Pig Immunoglobulin Reference Serum (BETHYL, Laboratories, Montgomery, TX) come standard specifico. L'assorbimento è stato letto a 405 nm da un lettore di micropiastre (Multiskan™ FC Microplate Photometer - Thermo Fisher Scientific). I valori di concentrazione, espressi in ug/mL, sono stati calcolati usando una curva parametrica a quattro punti. I campioni di saliva sono stati diluiti 1:4000 per l'analisi di IgA ed 1:2000 per l'analisi di IgG.

Estrazioni DNA batterico e sequenziamento

Il DNA batterico totale è stato estratto dai campioni fecali utilizzando il kit di estrazione FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals Europe, LLC). La quantità e qualità del DNA è stata valutata attraverso la quantificazione al Nanodrop e la semina su gel di agarosio. Il DNA è stato in seguito utilizzato per effettuare la caratterizzazione del profilo microbico attraverso sequenziando le regioni V3-V4 del gene 16S rRNA su piattaforma Illumina Miseq.

Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando SAS versione 9.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

La procedura GLM è stata utilizzata per adattare le misure di peso, la durata della gestazione e la quantità di Igs nella saliva con un modello lineare che includeva come fattori la dieta, la classe di ordine di parto, la loro interazione e la banda, e per alcuni parametri delle covariate, quali il numero di nati vivi ed il numero di suini della nidiata post-adozione.

Ai fini dell'analisi statistica sono state raggruppate nella stessa classe le scrofe di 4° e 5° quarto ed in altra classe quelle di ordine superiore.

La procedura GENMOD è stata utilizzata con una distribuzione di Poisson e la funzione log per i dati di numerosità nelle nidiata e con una distribuzione binomiale e una funzione Logit per i tassi di mortalità e per altri rapporti percentuali sui valori di numerosità nelle nidiata. Il modello in includeva come fattori la dieta, la classe di ordine di parto, la loro interazione e la banda, e per alcuni parametri delle covariate, quali la durata della gestazione ed il numero di suini della nidiata post-adozione.

Analisi Bioinformatica Microbiota

Per l'analisi bioinformatica è stata utilizzata la pipeline DADA2(Callahan et al., 2016), la tassonomia è stata assegnata usando come riferimento il Silva Database (release 132) (Quast et al., 2013).

Le analisi statistiche su Alfa diversità, Beta diversità e composizione tassonomica sono state effettuate con software R v3.6, utilizzando i pacchetti PhyloSeq (McMurdie and Holmes, 2013), Vegan (Dixon, 2003) e lme4 (Bates et al., 2015).

Per l'Alfa diversità è stato utilizzato un modello ANOVA considerando come fattori l'ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), la banda e il trattamento (Controllo – Trattato)

Per la Beta diversità è stato utilizzato un modello PERMANOVA (procedura "adonis") utilizzando come matrice di distanza Bray-Curtis.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Le differenze in composizione tassonomica tra i due gruppi (TRT e CON) sono state analizzate utilizzando il pacchetto DESeq2 basato su modelli lineari generalizzati binomiali negativi e che applica il metodo Benjamini-Hochberg per la correzione dei confronti multipli (Love et al., 2014).

Infine, le variabili relative alle performance produttive della scrofa sono state correlate alla composizione del microbiota, utilizzando la metodologia sPLS (Sparse Partial Least Squares regression) del pacchetto mixOmics (Rohart et al., 2017), aggregando i dati a livello di genere e normalizzandoli tramite Cumulative Sum Scaling normalisation (CSS) al fine di evidenziare eventuali connessioni tra le performance produttive della scrofa e specifici taxa del proprio profilo microbico

Risultati

Performance riproduttive delle scrofe e dei suinetti

Riguardo la numerosità della nidiata nelle diverse categorie di valutazione, nel periodo compreso dalla nascita allo svezzamento, la dieta non ha avuto un effetto statisticamente significativo sui parametri analizzati, se si considera il modello comprendente tutti i fattori come riportati in **Tabella 3** (dieta, ordine di parto, banda).

Eccezione si è vista per la mortalità da 0 a 3 giorni di vita, dove si è rilevata una tendenza positiva dell'effetto della dieta, con un minor numero di morti nel gruppo ARG rispetto al CON ($P=0.088$). Tali risultati sono in linea con quanto osservato da Gonçalves (2016), nel quale studio è stata registrata una minor mortalità pre-svezzamento per le scrofe alimentate con un supplemento di Arg nel periodo finale della gestazione.

In una ulteriore elaborazione statistica, ordine di parto e banda sono stati esclusi come fattori dal modello ove non incidevano significativamente, e i parametri di natalità e mortalità sono stati quindi analizzati considerando la dieta come unico fattore. In tal caso è risultata una tendenza della dieta sul numero di nati vivi, maggiore nel gruppo ARG rispetto al CON (con 0.82 suini in più) ($P=0.086$), così come è risultato un effetto statisticamente significativo della dieta considerando il numero di nati totali, sempre maggiore nel gruppo ARG rispetto al CON (con 1 suino in più) ($P=0.043$).

I risultati osservati nello studio sono in accordo con quanto osservato in studi precedenti di Gao et al. (2012) e Mateo et al., (2007) nei quali lavori è stato registrato un aumento dei nati (1.31 suinetti) (Gao et al., 2012) e dei nati vivi (1.1 and 2.03 suinetti) rispettivamente (Gao et al. 2012; Mateo et al., 2007) nelle scrofe la cui dieta era stata integrata con 1,0% di L-arginina-HCl tra 22 e 114 giorni di gestazione (Gao et al., 2012) e tra 30 e 114 giorni di gestazione (Mateo et al., 2007).

L'ordine di parto è risultato statisticamente significativo considerando i suini nati mummificati, con il minor numero di mummificati al secondo parto, mentre si è visto un aumento di essi dal terzo parto in poi ($P < 0.0001$). L'ordine di parto è risultato influire significativamente anche sui

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

parametri relativi al numero di IUGR lievi e al numero di IUGR totali ($P < 0.05$), nonché sulla mortalità da 0 a 3 giorni di vita, minore nelle primipare e maggiore negli ordini di parto successivi ($P < 0.001$).

Tabella 3 – Numerosità della nidiata alla nascita e allo svezzamento (22.8 giorni, ± 0.78 d.s.) nei due gruppi (medie con errore standard e significatività statistica)¹.

	Dieta				Ordine parto							Banda
	CON	ARG	Err.S.M.	P	1	2	3	4-5	Oltre	Err.S.M.	P	P
Nati vivi, n	12.56	13.34	0.029	0.125 ²	13.96	12.67	12.97	12.20	12.99	0.045	0.174	0.761
Nati morti, n	0.76	0.96	0.112	0.117	1.04	0.87	0.65	0.83	0.95	0.178	0.523	0.655
Nati totali, n	13.33	14.32	0.028	0.060 ³	15.01	13.55	13.62	13.03	13.95	0.044	0.107	0.849
Mummificati, n	1.37	1.56	0.085	0.244	1.16	0.73	1.45	2.28	2.43	0.136	<.0001	0.701
Iugr medi, n	0.05	0.04	0.502	0.602	0.05	0.02	0.06	0.04	0.06	0.681	0.798	0.001
Iugr lievi, n	0.13	0.07	0.349	0.101	0.20	0.07	0.14	0.02	0.17	0.571	0.023	0.617
Iugr totali, n	0.22	0.13	0.251	0.113	0.27	0.10	0.24	0.08	0.25	0.397	0.042	0.063
Morti 0 – 3 giorni	1.07	0.84	0.105	0.088	0.56	0.95	1.11	0.91	1.41	0.165	0.001	0.107
Morti totali fino svezzamento, n	1.64	1.53	0.081	0.543	1.51	1.27	1.84	1.31	2.16	0.127	0.007	0.004
Scarti, n	0.49	0.53	0.143	0.673	0.77	0.33	0.49	0.42	0.68	0.231	0.022	0.053
Svezzati totali, n	10.97	11.45	0.031	0.316	11.81	11.58	11.10	11.13	10.47	0.206	0.396	0.787

¹ I valori medi sono stati convertiti dal logaritmo dopo l'analisi statistica, mentre gli errori standard sono ancora in logaritmo naturale.

² Escludendo ordine di parto e banda, che sono statisticamente non significativi: 12.58 vs. 13.4, $P = 0.086$.

³ Escludendo ordine di parto e banda, che sono statisticamente non significativi: 13.39 vs. 14.43, $P = 0.043$.

Considerando gli stessi parametri di natalità e mortalità precedentemente analizzati, ma riportati in percentuale (**Tabella 4**), la dieta non ha avuto effetto statisticamente significativo, se si eccettua una tendenza nel caso della percentuale di nati valutati come IUGR (calcolata sul numero di nati vivi), che sono diminuiti nel gruppo ARG (0.69 % suini in meno) rispetto al CON ($P = 0.098$).

Si è poi riscontrato un effetto statisticamente significativo dell'ordine di parto sulle percentuali di mummificati (calcolata sui nati totali, compresi i mummificati) ($P < 0.0001$), di morti totali

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

(calcolata sul totale di suinetti allattati post-adozione) ($P < 0.003$) e di morti e scarti (calcolata sul totale di suinetti allattati post-adozione) ($P < 0.0001$).

Il numero di suinetti allattati nel periodo post-adozione ha influenzato significativamente la % di morti da 0 a 3 giorni di vita ($P = 0.000$) la % di morti totale ($P = 0.001$).

Tabella 4 – Mortalità ed altre misure espresse in quota percentuale, dalla nascita e allo svezzamento (22.8 giorni, ± 0.78 d.s.) nei due gruppi (medie con errore standard e significatività statistica)¹.

	Dieta				Ordine parto							Banda	tot. allattati post- adozioni
	CON	ARG	Err.S.M.	P	1	2	3	4-5	Oltre	Err.S.M.	P	P	P
Nati morti/nati, %	5.73	6.75	0.115	0.260	6.94	6.47	4.76	6.32	6.86	0.183	0.743	0.609	-
IUGR/nati vivi, %	1.68	0.99	0.253	0.098	1.99	0.80	1.86	0.63	1.94	0.400	0.070	0.045	-
Mummificati/nati e mummificati, %	9.35	9.82	0.090	0.656	7.16	5.08	9.59	14.90	14.84	0.144	<.0001	0.726	
Morti da 0 a 3 d/tot. allattati post-adozioni, %	8.32	6.84	0.112	0.172	4.90	7.49	8.79	6.94	10.78	0.176	0.010	0.135	0.001
Morti tot./tot. allattati post- adozioni, %	13.05	12.41	0.089	0.640	12.60	10.05	14.85	10.23	17.07	0.139	0.003	0.002	0.001
Scarti/tot. allattati post- adozioni, %	3.95	3.95	0.150	0.997	4.91	2.60	3.65	3.53	5.78	0.242	0.080	0.080	0.084
Morti e scarti tot./tot. allattati post-adozioni, %	17.68	16.96	0.078	0.640	18.32	13.12	19.19	14.08	23.39	0.124	<.0001	0.197	0.028

¹ I valori medi sono stati convertiti dal logaritmo dopo l'analisi statistica, mentre gli errori standard sono ancora in funzione Logit.

In **Tabella 5** sono riportate le medie con errore standard e relativa significatività statistica (risultato significativo con $P < 0.05$) delle performance riproduttive in termini di peso della nidiata dalla nascita fino allo svezzamento e di incremento ponderale della nidiata, secondo la dieta e l'ordine di parto, aggiustate per la banda ed il numero di suini post-adozione nella nidiata. Tale analisi è stata effettuata considerando il sottogruppo di scrofe costituito da rispettivamente da 63 scrofe CON e 64 scrofe ARG.

La dieta non è risultata essere statisticamente significativa per tutti i parametri.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

L'effetto dell'Arginina sulle performance riproduttive delle scrofe in termini di peso della nidiata sono controverse. Alcuni lavori riportano un miglioramento significativo del peso dei suinetti alla nascita (Gao et al., 2012; Nuntapaitoon et al. 2018) mentre altri, in accordo con il nostro studio, indicano che non ci sono effetti sul peso dei suinetti e della nidiata (Gonçalves et al., 2016; Bass et al., 2017). Tale differenza tra gli studi può essere determinata dalla differenza nella quantità della supplementazione di Arg e nei tempi di somministrazione durante la gestazione.

Si è rilevato un effetto statisticamente significativo dell'ordine di parto sia sui pesi medi che sui pesi della intera nidiata, sia nel periodo preadozione che allo svezzamento ($P < 0.05$), e sull'incremento ponderale giornaliero della intera nidiata ($P < 0.001$). Inoltre, si è visto che il numero di suinetti sotto scrofa successivo alle adozioni ha influenzato significativamente il peso a svezzamento (sia medio che della nidiata) e anche l'incremento ponderale giornaliero della nidiata ($P < 0.05$), entrambi correlati positivamente con il numero dei suinetti.

Tabella 5 – Peso vivo della nidiata alla nascita e allo svezzamento (22.8 giorni, \pm 0.78 d.s.) ed incremento ponderale nei due gruppi (medie con errore standard e significatività statistica)¹.

	Dieta				Ordine parto							Banda,	N suini post-adozione
	CON	ARG	Err.S.M.	P	1	2	3	4-5	Oltre	Err.S.M.	P	P	P
Peso medio preadozione, kg	1.39	1.36	0.023	0.620	1.29	1.57	1.38	1.41	1.26	0.037	<.0001	0.193	-
Peso nidiata preadozione, kg	17.81	18.19	0.476	0.574	18.58	19.79	17.76	18.11	15.78	0.755	0.007	0.916	-
Peso nidiata post-adozione, kg	17.18	17.59	0.360	0.420	17.76	19.41	17.59	16.94	15.24	0.571	<.0001	0.643	-
Peso medio allo svezzamento, kg	6.29	6.31	0.082	0.880	5.95	6.56	6.57	6.29	6.14	0.132	0.004	0.837	0.027
Peso nidiata allo svezzamento, kg	68.90	69.08	1.536	0.933	61.92	77.60	71.92	70.85	62.68	2.465	<.0001	0.170	<.0001
Incremento ponderale giornaliero della nidiata, kg	2.23	2.27	0.064	0.681	1.96	2.55	2.39	2.35	2.02	0.102	<.0001	0.110	0.0007

¹Relativo alle scrofe dei sottogruppi (CON, n = 63; ARG, n = 64).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Peso della placenta e durata della gestazione

In **Tabella 6** sono riportate le medie con errore standard e relativa significatività statistica (risultato significativo con $P < 0.05$) dei dati di peso della placenta e della durata gestazionale, secondo la dieta e l'ordine di parto, aggiustate per la banda ed il numero di nati vivi. La dieta non ha influenzato i due parametri.

E' risultata una significatività relativa al peso della placenta a seconda del diverso ordine di parto: il peso placentare è aumentato con l'aumentare dell'ordine di parto con un massimo di peso nelle terzipare, per poi calare negli ordini di parto successivi ($P < 0.001$). Il numero di nati vivi ha giocato un ruolo statisticamente significativo per ambedue i parametri ($P < 0.001$). Nello specifico, il peso della placenta è aumentato con l'aumento del numero di nati vivi, per un valore di quasi 200 g per ogni nato in più (coefficiente = 194). Invece la durata della gestazione è risultata essere inversamente proporzionale al numero di nati vivi.

Tabella 6 – Peso della placenta e durata della gestazione nei due gruppi (medie con errore standard e significatività statistica).

	Dieta				Ordine parto							Banda	Nati vivi	
	CON	ARG	Err.S.M.	P	1	2	3	4-5	Oltre	Err.S.M.	P	P	Coefficiente	P
Peso placenta, g	2748	2763	96.3	0.904	2165	2827	3127	2917	2742	147.8	0.000 ¹	<.0001	194	<.0001
Durata gestazione, gg	115.8	115.9	0.07	0.213	116.0	115.7	115.7	116.0	115.9	0.12	0.352	0.026	-0.0775	<.0001

¹ Effetto dell'ordine di parto lineare e quadratico, ambedue $P < 0.001$.

Immunoglobuline nella saliva

In **Tabella 7** sono riportate le medie con errore standard e relativa significatività statistica (risultato significativo con $P < 0.05$) dei dati relativi alla concentrazione di IgA ed IgG ($\mu\text{g/mL}$) nella saliva delle scrofe, secondo la dieta e l'ordine di parto, aggiustate per la banda ed il numero di nati vivi. Le quantità di Igs nella saliva sono in accordo con quanto riportato in bibliografia (Escribano et al., 2012). La dieta non ha influenzato i due parametri mentre l'ordine di parto ha mostrato un andamento quadratico per la concentrazione di IgA, con un massimo di concentrazione nelle terzipare, per poi calare negli ordini di parto successivi ($P < 0.04$).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 7. – Concentrazione di immunoglobuline A e G nella saliva nei due gruppi (medie con errore standard e significatività statistica)¹.

	Dieta				Ordine parto							Banda	Nati vivi
	CON	ARG	Err.S.M.	P	1	2	3	4-5	Oltre	Err.S.M.	P	P	P
IgA, µg/mL	361	343	37	0.738	275	388	419	391	285	60	0.332 ²	0.223	0.157
IgG, µg/mL	48.9	43.0	8.1	0.607	36.7	61.6	41.7	42.4	47.3	12.8	0.703	0.578	0.367

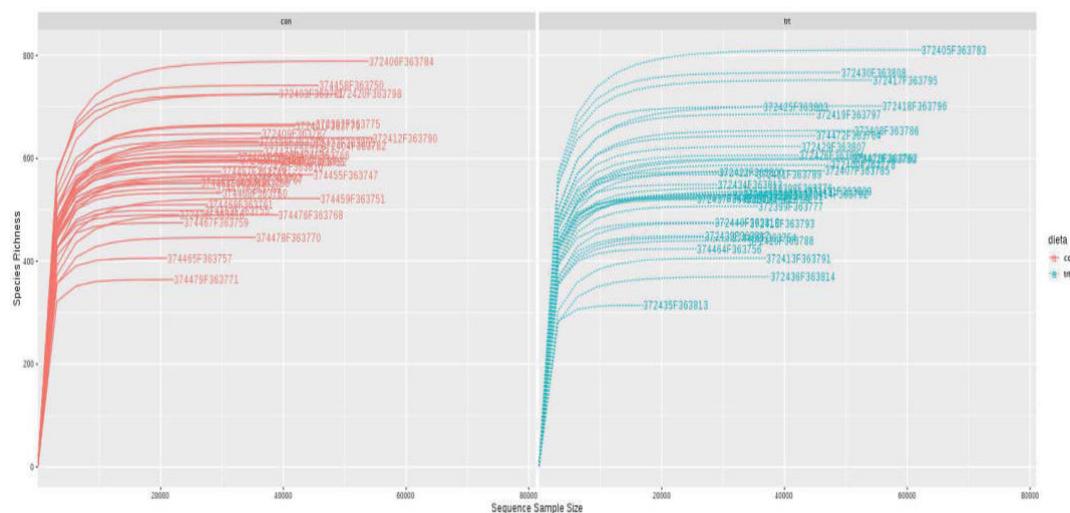
¹Relativo alle scrofe dei sottogruppi (CON, n = 36; ARG, n = 36).

²Effetto quadratico della classe di ordine di parto, P = 0.04.

Profilo Microbico fecale

Tutti i campioni sottoposti al sequenziamento della regione V3-V4 hanno prodotto in media un buon numero di sequenze (37.589 in media). Le curve di rarefazione, considerate un controllo qualitativo del metodo di sequenziamento, rappresentano il numero di unità tassonomiche (ASV, amplicon sequence variant) identificate in relazione alla profondità di sequenziamento e sono riportate in **Figura 1**. Dalla **Figura 1** mostra che nel complesso tutti i campioni hanno raggiunto il punto di plateau, indicando che la procedura di sequenziamento è stata in grado di identificare tutta la variabilità tassonomica presente in quello specifico ecosistema, dimostrando pertanto che il sequenziamento è stato ottimale.

Figura 1. Curve di rarefazione dei campioni di DNA batterico estratto da feci delle scrofe



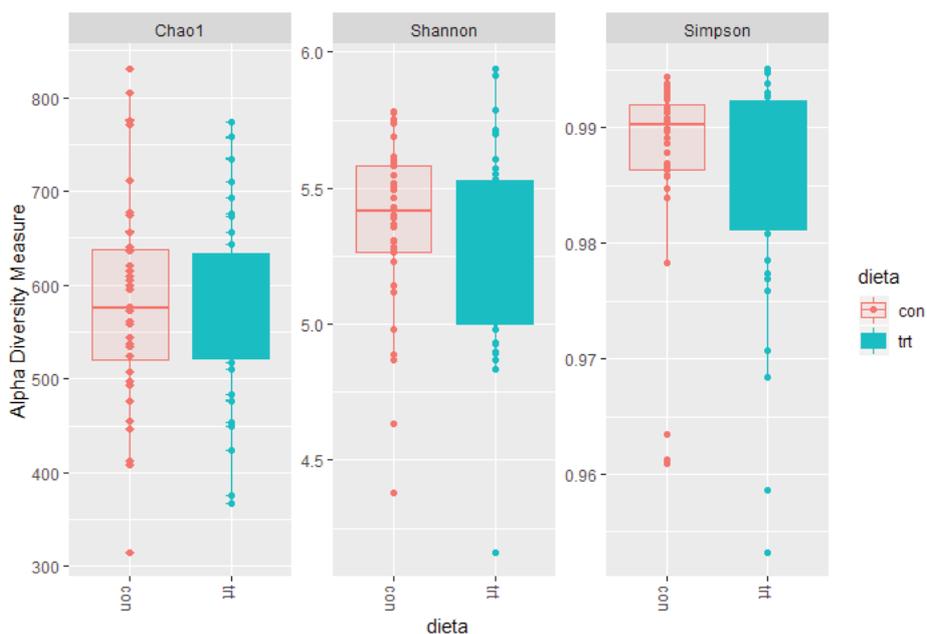
Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

I valori di Alfa diversità (differenze all'interno del gruppo) per Chao1, Shannon e Simpson (**Figura 2**) sono riportati in **Tabella 8**, non ci sono state differenze significative tra i due gruppi.

Tabella 8 . Media dei valori di Alfa diversità per Chao1, Shannon, Simpson

Alpha	CON	ARG	SE	Df	P.value
Chao1	583	573	12	66	0.5609
Shannon	5.36	5.32	0.05	66	0.5833
Simpson	0.99	0.99	0.01	68	0.4597

Figura 2. Alfa diversità per Chao1, Shannon e Simpson per il gruppo di controllo e per il trattato



Per la Beta diversità, il test Adonis non ha mostrato differenze significative per il fattore dieta e per il fattore categoria di parto, mentre è risultato significativo per il fattore ordine di parto non raggruppato (**Tabella 9**).

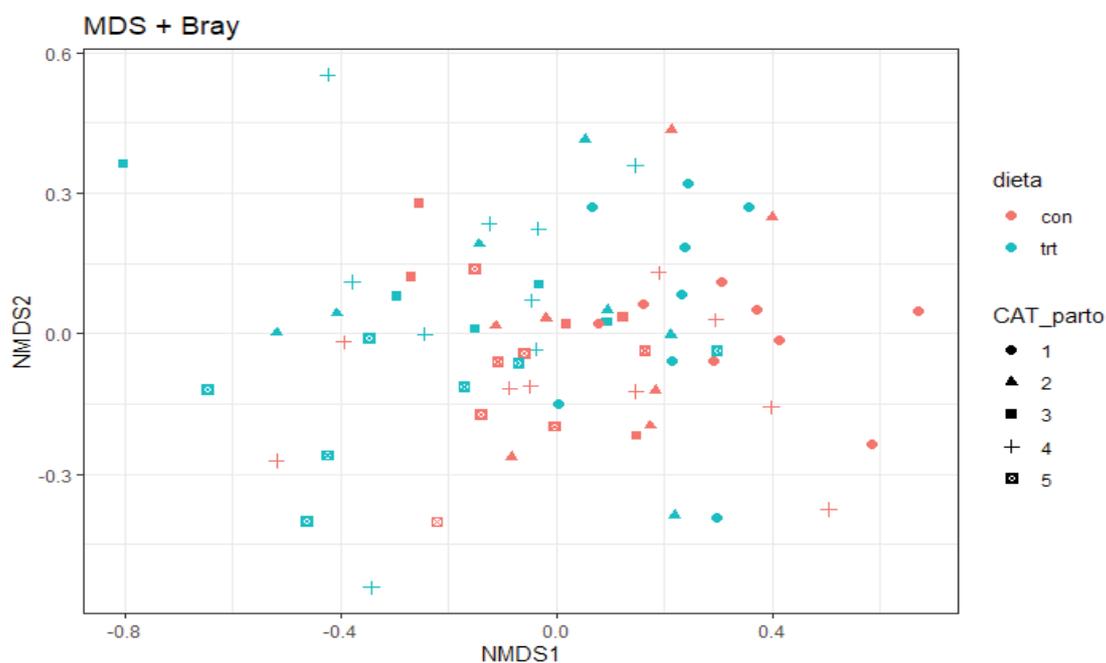
In **Figura 3** è riportato il grafico NMDS effettuato utilizzando la matrice di distanza Bray-Curtis. In accordo con il test statistico di Adonis, dal grafico non si evince nessuna separazione netta né tra le due diete e né tra scrofe di ordine di parto diverso.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 9. Risultati test Adonis per Dieta e Categoria di Parto (Cat_parto)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R2	P.value
Dieta	1	0.11	0.11	0.69	0.009	0.923
Residuals	70	11.61	0.17		0.990	
Total	71	11.73			1.00	
CAT_parto	4	0.76	0.19	1.16	0.065	0.137
Residuals	67	10.97	0.16		0.935	
Total	71	11.73			1.00	
op	1	0.27	0.27	1.67	0.023	0.023 *
Residuals	70	11.45	0.16		0.977	
Total	71	11.73			1.00	

Figura 3. NMDS plot utilizzando la matrice di distanza Bray-Curtis (Trattamento e Categoria di Parto)



Per quanto riguarda la composizione tassonomica, sono stati identificati un numero di ASV totale di 3011, distribuiti tra 21 diversi phyla, 30 classi, 85 famiglie, 212 generi, 71 specie diverse. A livello di genere i più comuni sono risultati i generi: *Rikenellaceae*, *Ruminocoaccaeae*, *Christensenellaceae* e *Treponema*.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

La **Tabella 10** mostra le differenze significative, riportate come variazione logaritmica (\log_2FC) evidenziate dall'analisi svolta con DEseq2 nelle diverse taxa batteriche per dieta. A valori di \log_2FC positivi corrispondono a una maggiore presenza della specifica taxa nel gruppo Arg mentre a valori negativi corrisponde una maggior presenza nel gruppo CON.

La somministrazione di una dose maggiore di Arg, ha portato ad un aumento di batteri del genere *Bacteroides* (**Figura 4**), che nell'uomo è stato associato ad una dieta con elevati livelli di proteine animali e amminoacidi (Wu et al., 2011). Inoltre, si è assistito ad una riduzione di diverse famiglie batteriche quali Succinivibrionaceae, Acidaminococcaceae (**Figura 5**), Veillonellaceae (**Figura 6**) e del genere *Succinivibrio* (**Figura 8**) rispetto al gruppo di controllo.

Tabella 10. Risultati DEseq2 per i diversi livelli tassonomici

Taxa	Name	\log_2FC	lfcSE	P.value	FDR
ASV	ASV_690	24.233	2.0934	5.46E-31	1.29E-27
	ASV_215	-23.532	2.41	1.60E-22	1.90E-19
	ASV_294	-25.107	2.8293	7.08E-19	5.60E-16
Classe	Negativicutes	-0.67017	0.17264	1.04E-04	0.003005
Ordine	Selenomonadales	-0.659	0.17502	1.66E-04	0.005447
	Aeromonadales	-1.3952	0.38195	2.59E-04	0.005447
Famiglia	Bacteroidaceae	1.7792	0.36609	1.17E-06	7.39E-05
	Succinivibrionaceae	-1.3952	0.37389	1.90E-04	0.005995
	Acidaminococcaceae	-0.45426	0.15266	0.002924	0.046668
	Veillonellaceae	-1.8479	0.62187	0.002963	0.046668
Genere	<i>Bacteroides</i>	1.7977	0.36751	1.00E-06	1.74E-04
	<i>Succinivibrio</i>	-1.3768	0.3724	2.18E-04	0.018967

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
 FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Figura 4. Box plot abbondanza media Bacteroides nel gruppo di controllo e il trattato.

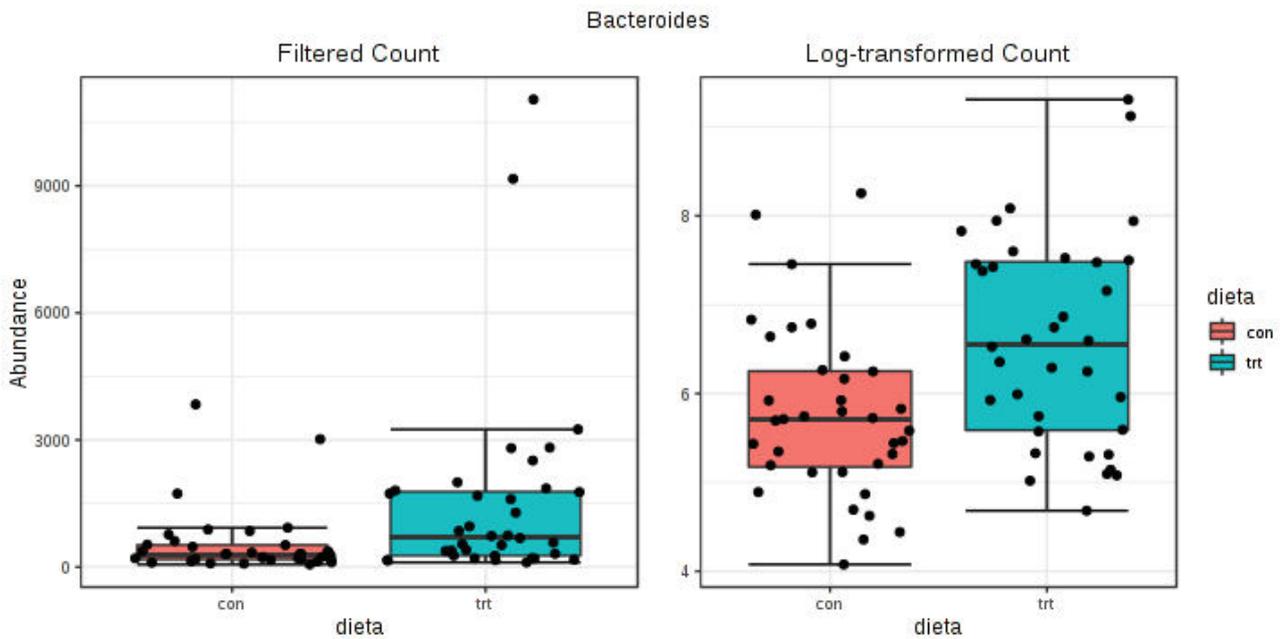
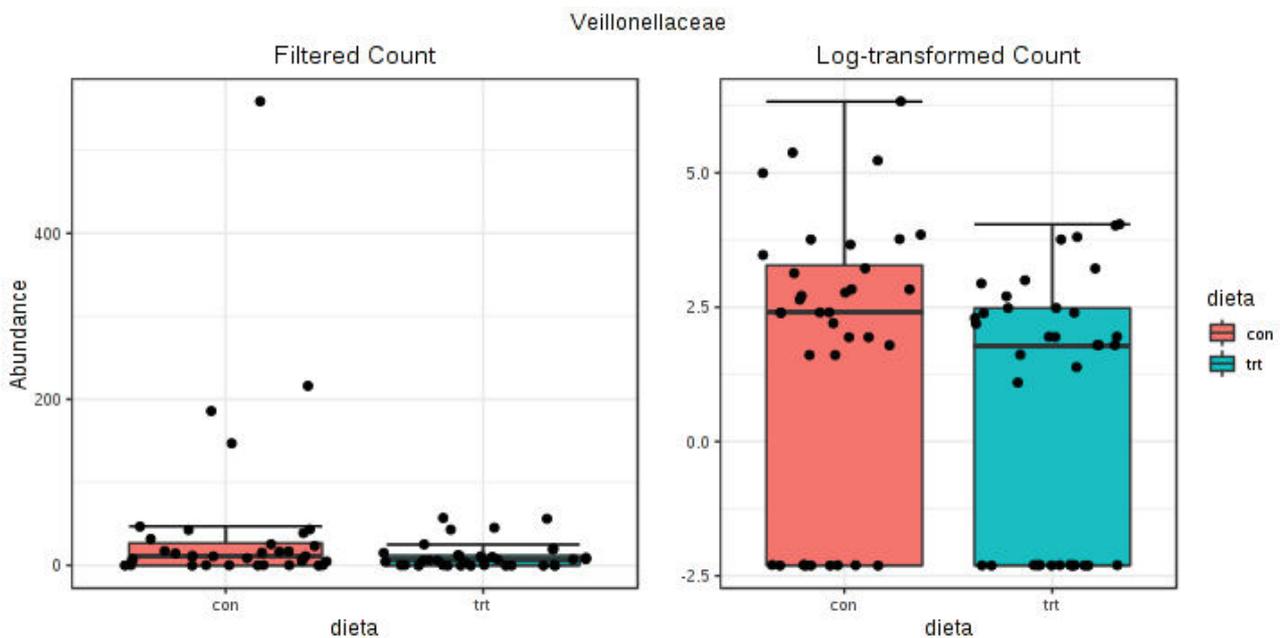


Figura 5. Box plot abbondanza media Veillonellaceae nel gruppo di controllo e il trattato.



Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Figura 5. Box plot abbondanza media Acidaminococcaceae nel gruppo di controllo e il trattato.

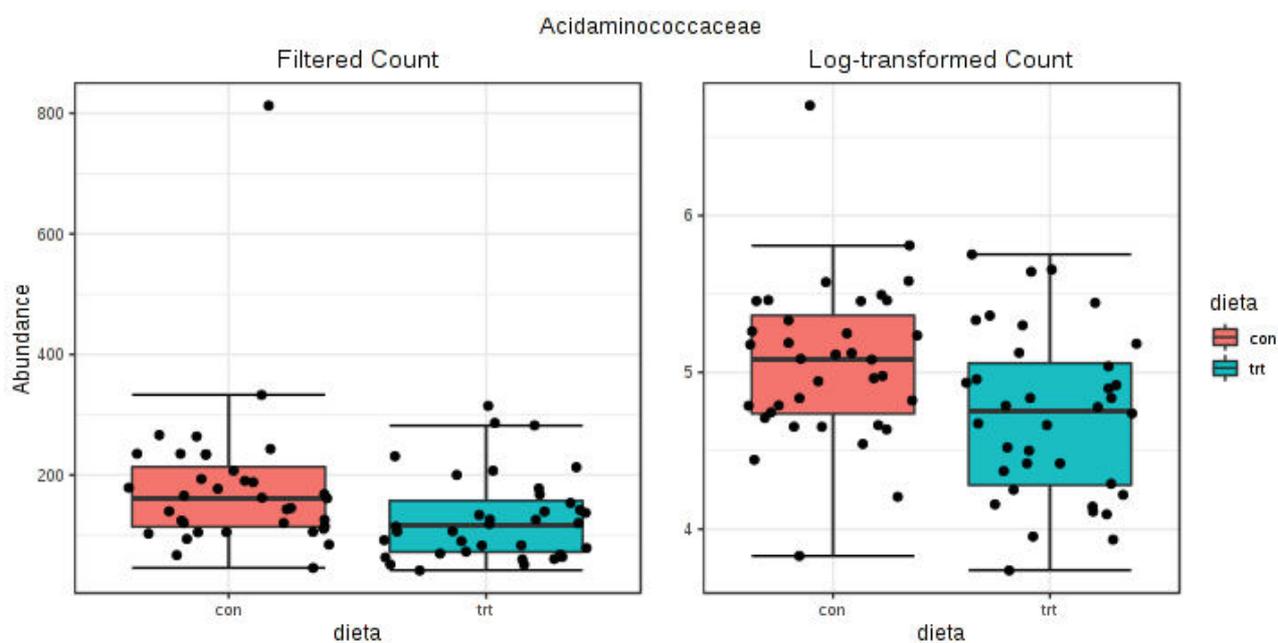
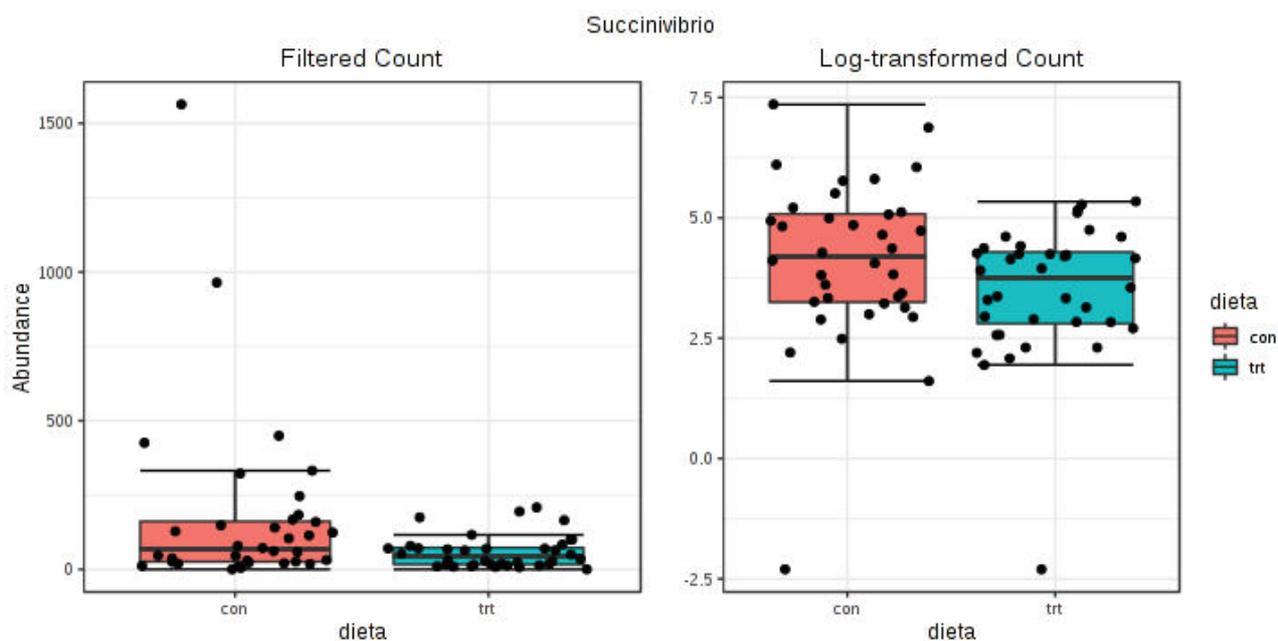


Figura 6. Box plot abbondanza media *Succinivibrio* nel gruppo di controllo e il trattato.

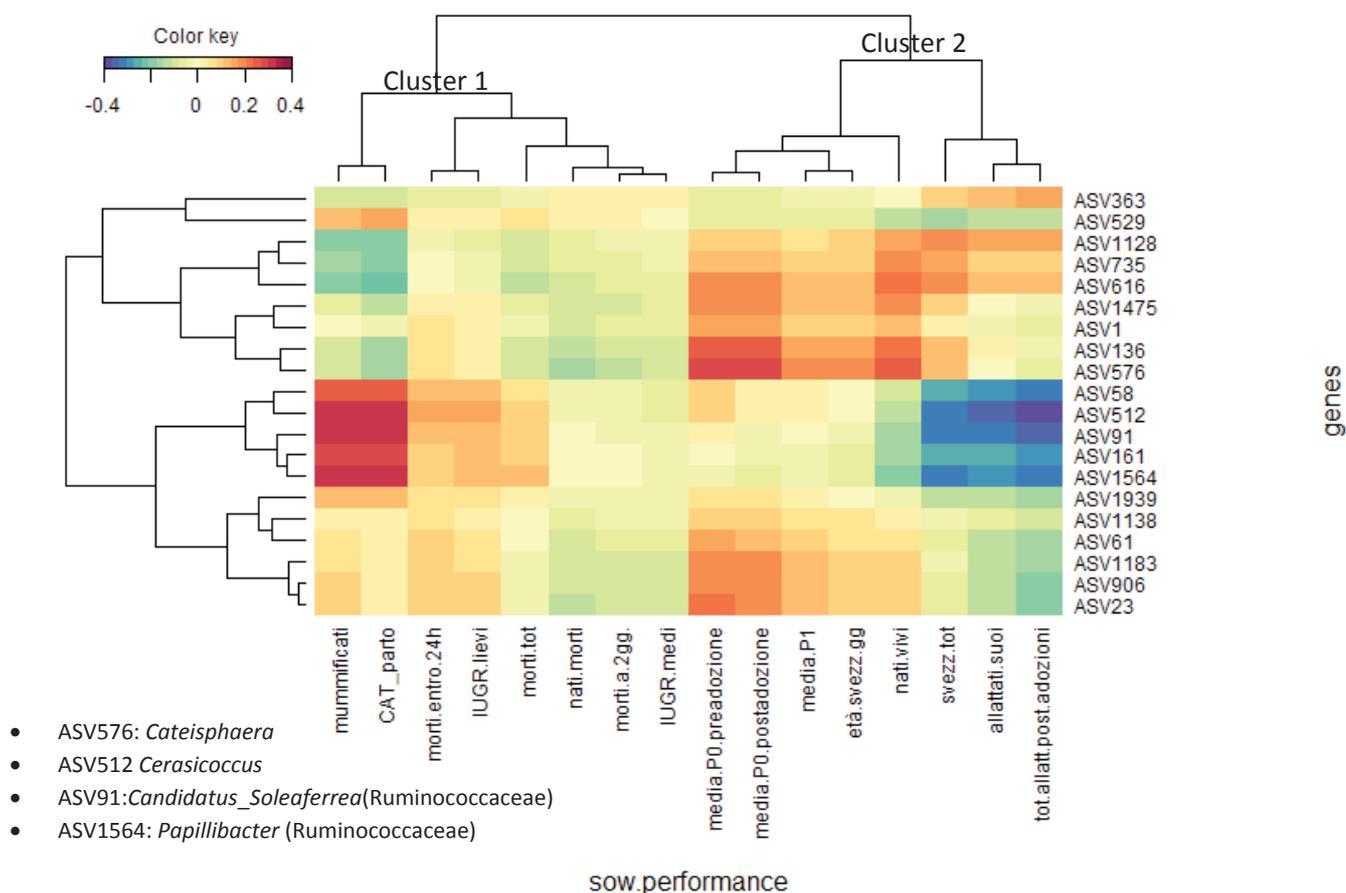


Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Per comprendere se alcune variabili continue relative alle performance della scrofa fossero correlate ad alcune specifiche ASV (raggruppate a livello di genere) è stata effettuata l'analisi sparse Partial Least Square (sPLS). La regressione sPLS suggerisce che i dati relativi al profilo microbico fecale delle scrofe si dividono in due cluster diversi, il Cluster 1 correlato al numero di nati morti, mummificati, IUGR e categoria di parto della scrofa ed il Cluster 2 al numero nati.vivi, media.P0.preadozione, media.P0.postadozione, media.P1, età.svezz.gg, allattati.suoi, svezz.tot, tot.allattati.post.adozione(**Figura 8**).

Inoltre dal grafico si può notare che la categoria di parto è positivamente correlata a una serie di ASV riconducibili alla famiglia delle *Ruminococcaceae*, famiglia batterica capace di fermentare carboidrati complessi e produrre SCFA (acidi grassi a catena corta) (Quan et al., 2018)

Figura 8. Risultati analisi sparse Partial Least Square analisi di correlazione tra il profilo microbico fecale delle scrofe e le performance produttive delle stesse.



Riferimenti Bibliografici

- Bass, B.E., Bradley, C.L., Johnson, Z.B., Boyd, R.D., Usry, J.L., Maxwell, C.V., Frank, J.W., 2017. Influence of dietary L-arginine supplementation of sows during late pregnancy on piglet birth weight and sow and litter performance during lactation. *J. Anim. Sci.* 95, 248–256. <https://doi.org/10.2527/jas2016.0986>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13, 581–583.
- Dixon, P., 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science* 14, 927–930. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>
- Easter, R. A., R. S. Katz, and D. H. Baker. 1974. Arginine: A dispensable amino acid for postpubertal growth and pregnancy of swine. *J. Anim. Sci.* 39:1123–1128. doi:10.2527/jas1974.3961123x
- Escribano, D., Gutiérrez, A. M., Subiela, S. M., Tecles, F., & Cerón, J. J. (2012). Validation of three commercially available immunoassays for quantification of IgA, IgG, and IgM in porcine saliva samples. *Research in veterinary science*, 93(2), 682-687.
- Gao, K., Jiang, Z., Lin, Y., Zheng, C., Zhou, G., Chen, F., Yang, L., Wu, G., 2012. Dietary Larginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. *Amino Acids* 42, 2207–2214. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0960-9>
- Gonçalves, M. A. D., Gourley, K. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Bello, N. M., DeRouchey, J. M., Woodworth, J. C., Goodband, R. D. (2016). Effects of amino acids and energy intake during late gestation of high-performing gilts and sows on litter and reproductive performance under commercial conditions. *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE*, 94:1993-2003.
- Hines, E. A., Romoser, M. R., Kiefer, Z. E., Keating, A. F., Baumgard, L. H., Niemi, J., ... & Ross, J. W. (2019). The impact of dietary supplementation of arginine during gestation in a commercial swine herd: II. Offspring performance. *Journal of animal science*, 97(9), 3626-3635.
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550.
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE* 8, e61217.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Nuntapaitoon, M., Muns, R., Theil, P. K., & Tummaruk, P. (2018). L-arginine supplementation in sow diet during late gestation decrease stillborn piglet, increase piglet birth weight and increase immunoglobulin G concentration in colostrum. *Theriogenology*, 121, 27-34.

NRC. 2012. Nutrient requirements of swine. 11th Revised Edition. The National Academies Press, Washington, DC

Mateo, R.D., Wu, G., Bazer, F.W., Park, J.C., Shinzato, I., Kim, S.W., 2007. Dietary Larginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts. *J. Nutr.* 137, 652–656 <https://doi.org/10.1093/jn/137/3/652> [pii].

Quan, J., Cai, G., Ye, J., Yang, M., Ding, R., Wang, X., Zheng, E., Fu, D., Li, S., Zhou, S., Liu, D., Yang, J., Wu, Z., 2018. A global comparison of the microbiome compositions of three gut locations in commercial pigs with extreme feed conversion ratios. *Sci Rep* 8.

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41, D590–D596.

Palencia, J. Y. P., Lemes, M. A. G., Garbossa, C. A. P., Abreu, M. L. T., Pereira, L. J., Zangeronimo, M. G. (2018). Arginine for gestating sows and foetal development: A systematic review. *JOURNAL OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND ANIMAL NUTRITION*, 102:204-213.

Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., Cao, K.-A.L., 2017. mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLOS Computational Biology* 13, e1005752.

Theil, P.K. and Hurley, W.L. (2016). The Protein Component of Sow Colostrum and Milk, Milk Proteins - From Structure to Biological Properties and Health Aspects. in: I. Gigli (Ed.) *Milk Proteins—From Structure to Biological Properties and Health Aspects*. InTech, Rijeka, Croatia; 2016: 183–195.

Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F.D., Lewis, J.D., 2011. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 334, 105–108.

Wu, G., D. A. Knabe, and S. W. Kim. 2004b. Arginine nutrition in neonatal pigs. *J. Nutr.* 134:2783S–2790S. doi:10.1093/jn/134.10.2783S

Yuan, T.L., Zhu, Y.H., Shi, M., Li, T.T., Li, N., Wu, G.Y., Bazer, F.W., Zang, J.J., Wang, F.L., Wang, J.J. (2015). Within-litter variation in birth weight: impact of nutritional status in the sow. *JOURNAL OF ZHEJIANG UNIVERSITY SCIENCE B.*, 16(417-435).

REPORT FINALE

PSR AGRICOLA TRE VALLI

AZIONE 3.2

Strategie dietetiche volte a migliorare le conoscenze dei fabbisogni alimentari nel periparto di scrofe ad elevata prolificità

Prof. Paolo Trevisi e Prof. Paolo Bosi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari - Università di Bologna

Introduzione

Nei mammiferi, la sintesi dei componenti del colostro (colostrogenesi) inizia diversi giorni prima del parto, pertanto le pratiche alimentari delle scrofe nei giorni precedenti il parto vanno considerate con attenzione. La diversa composizione del colostro rispetto al latte può giustificare l'ipotesi di fabbisogni alimentari differenti per produrlo. Si è calcolato che alimentare le scrofe in questa fase secondo gli standard correnti, comporti un bilancio negativo per l'azoto, ma non per la lisina, che è l'amminoacido di solito primo limitante nel suino, ed a cui vengono riferiti anche gli altri amminoacidi essenziali (AAE). Questo indica che l'apporto alimentare è adeguato per la lisina, ma non per una certa parte degli altri AAE. Per gli AAE il fabbisogno alimentare è in stretta relazione con la composizione delle proteine del prodotto da formare. La composizione amminoacidica del colostro di scrofa è effettivamente diversa da quella tipica dal latte, ciò è dovuto in larga parte alla differenza quali-quantitativa della componente proteica di questi due secreti. In particolare, si differenziano gli AAE costituenti le diverse frazioni proteiche: treonina e valina per le immunoglobuline, leucina per la beta-latto-globulina, triptofano per la alfa-lattoalbumina. Questo fa quindi ipotizzare che in termini relativi il fabbisogno dei sopracitati AAE sia proporzionalmente maggiore per la produzione di colostro rispetto al latte, quando rapportati in unità di lisina. I valori per la proteina del colostro possono essere facilmente confrontati con i fabbisogni di AAE pubblicati per la gestazione e l'allattamento (NRC, 2012), tenendo sempre come unità di riferimento i valori della lisina. Nella pratica, la scrofa necessita di aminoacidi per sintetizzare le proteine del colostro così da limitare il catabolismo delle proteine corporee, ma la derivante carenza di aminoacidi circolanti potrebbe rappresentare un fattore limitante per la

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

sintesi delle proteine del colostro stesso. Si può quindi ipotizzare che i requisiti proteici ideali per la settimana pre-parto e per i primi giorni post-parto differiscano sostanzialmente dai fabbisogni per la sintesi del latte e che quindi sia richiesto un mangime di composizione differente.

Obiettivo

Lo scopo principale della ricerca è stato di verificare l'efficacia di una dieta arricchita con aminoacidi liberi sulla sopravvivenza e le performance della nidiata. Inoltre, si è verificata l'incidenza della dieta sulle caratteristiche fisiologiche e produttive della scrofa nel periodo del peri-parto.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato condotto nella scrofaia associata al Progetto di filiera Tre Valli (Tenuta Pasina di Veneri Maurizio, a Riolo Terme RA) finanziato nell'ambito del PSR dell'Emilia Romagna. La scrofaia ospita circa 800 scrofe ed il ciclo produttivo avviene su bande bi-settimanali di circa 80 scrofe/banda.

Definizione dei livelli di inclusione degli aminoacidi nella dieta

Preliminarmente, il livello d'inclusione di aminoacidi nella dieta sperimentale è stato definito partendo dalla composizione del colostro delle scrofe presenti nell'allevamento oggetto della prova. Nello specifico, sono stati definiti 4 pool utilizzando come riferimento l'ordine di parto (**Tabella 1**). Per ogni pool, i campioni sono stati uniti in modo omogeneo (**Tabella 2**) ed analizzati per determinarne il profilo amminoacidico presso il laboratorio NEUTRON (**Allegato I**). I campioni di colostro sono stati raccolti a parto iniziato, ma prima della fine dello stesso.

Tabella 1. Descrizione dei cluster riferiti all'ordine di parto.

	Ordine di parto incluso
Pool 1	1°
Pool 2	2° e 3°
Pool 3	4°-5°
Pool 4	Dal 6°parto in poi

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 2. Campioni raccolti per ogni ordine di parto e composizione dei pool

CAMPIONI COLOSTRO DEL 07/10/2018				
Campione	Ordine parto	ID Scrofa	ID Pool	ml per pool
3	1°	23912	1	25
5	1°	23908		25
7	2°	20238	2	25
9	3°	15790		8
12	3°	16441		8
15	3°	16411		8
16	4°	13130	3	6
13	4°	12486		6
10	4°	13135		6
8	4°	13469		6
1	5°	8737		12
11	5°	10089		12
2	6°	6097	4	10
4	6°	6099		10
6	7°	3058		15
14	10°	33098		15

Dalle analisi è emersa una netta omogeneità di contenuto in aminoacidi tra i colostri dei diversi ordini di parto. Quindi sono stati calcolati i valori medi dei singoli aminoacidi nel colostro, tali valori sono stati rapportati a quelli tipici del latte, usato come riferimento nei classici fabbisogni per la lattazione (NRC, 2012).

Dal confronto, fatto a pari contenuto di lisina, si è visto che il colostro contiene più treonina (+40%), triptofano (+54%) e valina (+19%). Questo ha fatto supporre che la dieta nella fase del periparto, per permettere una adeguata secrezione delle proteine del latte, debba contenere una quota maggiore di questi aminoacidi rapportati alla lisina e rispetto ai corrispondenti valori utilizzati nei mangimi di lattazione. Utilizzando tale rapporto nei confronti del fabbisogno di lattazione NRC, espresso in valori di digeribilità ileale standardizzata, il rapporto per la fase colostrale rispetto alla lisina sarebbe ipotizzabile in 88.2 %, 29.3 % e 101.3%, rispettivamente per treonina, triptofano e valina.

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

Prova in vivo

La prova ha coinvolto due bande successive, rispettivamente di 70 scrofe nella banda 1 e 77 scrofe nella banda 2, per un totale di 147 animali. Durante la gestazione, tutte le scrofe sono state alimentate con la dieta normalmente utilizzata nell'allevamento per questa fase. Al momento dell'ingresso in sala parto, ogni banda è stata suddivisa in due gruppi, bilanciati per ordine di parto: (i) Gruppo controllo (CON) ha ricevuto la dieta costituita dalla formula normalmente utilizzata in allevamento durante la gestazione; (ii) Gruppo trattato (TRT), ha ricevuto la stessa dieta del gruppo CON in cui però è stato variato il rapporto di Treonina (Thr), Triptofano (Trp) e Valina (Val) rispetto alla Lisina (Lys) (**Tabella 3**). I valori di inclusione per i tre aminoacidi sono stati calcolati partendo dai valori nel mangime di controllo fino a raggiungere i rapporti con la lisina così come definiti rispetto al valore ideale per il colostro (valori sopra riportati).

La dieta è stata differenziata tra i due gruppi sperimentali al momento dell'ingresso in sala parto ed è stata somministrata con sistema automatico, secondo il piano alimentare normalmente utilizzato in azienda, per 8 giorni nel periodo del periparto, con una media di 5 giorni pre-parto e 3 giorni post-parto (incluso il giorno del parto) (**Tabella 4**).

Le due diete sono state somministrate complessivamente a 76 scrofe per il gruppo CON e di 71 scrofe del gruppo TRT. Dopo 7 giorni, a tutte le scrofe è stata somministrata la stessa dieta, quindi senza la maggiorazione in amminoacidi. Una scrofa del gruppo CON è stata poi scartata in quanto morta durante il periodo di prova, ottenendo quindi un totale di 146 scrofe.

Tabella 3. livelli di inclusione di treonina (TR), valina (VAL) e triptofano (TRP) aggiunti nella dieta (trattato, TRT) rispetto alla proteina ideale, calcolati in rapporto alla lisina

	THR	TRP	VAL
Aumento %	17.56	26.39	15.79
Aumento g/kg	0.74	0.34	0.77

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 4. Numero di giorni di somministrazione della dieta prima e dopo il parto nei due gruppi sperimentali.

Tempo dieta pre-parto (giorni)	N° animali			Tempo dieta post-parto (giorni)	N° animali		
	CON	TRT	TOT		CON	TRT	TOT
2	1	0	1	6	1	0	1
3	5	11	16	5	5	11	16
4	11	11	22	4	11	11	22
5	34	25	59	3	34	25	59
6	23	21	44	2	23	21	44
7	1	3	4	1	1	3	4

Rilevamenti e campionamenti

A tre giorni dall'inizio della somministrazione delle diete sperimentali e tre giorni prima dello svezzamento, su tutte le scrofe è stato rilevato tramite ecografo lo spessore del lardo dorsale e del muscolo in posizione P2 per determinare la consistenza e la successiva perdita (deperimento) della scrofa durante la lattazione. Sono inoltre stati raccolti i dati relativi alla numerosità della nidiata, mortalità e cause associate ad essa.

Per un sottogruppo di scrofe (rispettivamente 50 scrofe del gruppo CON e 49 scrofe del gruppo TRT), al parto è stato raccolto un campione di colostro. Dalle stesse scrofe, è stato prelevato un campione di saliva a circa 2 ore dal pasto del mattino. Dalle nidiata delle stesse scrofe, è stato registrato il peso individuale dei suinetti alla nascita (P0) e allo svezzamento (P1).

Allo svezzamento, da un sottogruppo di scrofe tra quelle già campionate per il colostro e la saliva, è stato eseguito un tampone rettale per determinare il profilo microbico fecale.

Analisi del colostro e della saliva

Il colostro prelevato al parto è stato analizzato per la sua composizione in grasso, caseina, proteine, lattosio, urea, residuo secco e cellule somatiche e immunoglobuline (Igs), rispettivamente IgA, IgG, e IgM. La saliva è stata analizzata per la sua composizione in IgA ed IgG.

Le analisi delle Igs sono state effettuate tramite il test immunoenzimatico ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) utilizzando gli anticorpi suino-specifici goat anti-pig IgA/IgG/IgM-affinity purified e goat anti-pig sIgA/sIgG/sIgM-HRP conjugate (BETHYL Laboratories, Montgomery, TX) ed il Pig Immunoglobulin Reference Serum (BETHYL, Laboratories, Montgomery, TX) come standard specifico. I campioni sono stati letti con lettore per micropiastre (Multiskan™ FC Microplate Photometer - Thermo Fisher Scientific) ad un assorbanza di 405 nm. I valori di concentrazione, espressi in mg/mL, sono stati calcolati usando una curva parametrica a quattro punti. I campioni di colostro sono stati diluiti 1:50000, 1:500000 ed 1:10000 rispettivamente per l'analisi di IgA, IgG e

IgM, mentre i campioni di saliva sono stati diluiti 1:4000 per l'analisi di IgA ed 1:2500 per l'analisi di IgG.

Analisi del microbiota

Dai tamponi rettali eseguiti sulle scrofe a fine lattazione, è stato estratto il DNA batterico totale tramite kit di estrazione (FastDNATM Spin Kit for Soil, MP Biomedicals Europe, LLC) per effettuare la caratterizzazione del microbiota. Il profilo microbioco è stato caratterizzato sequenziando le regioni V3-V4 del gene 16S rRNA. Per l'analisi bioinformatica, è stata utilizzata la pipeline DADA2(Callahan et al., 2016). Riassumendo i vari passaggi, le sequenze sono state filtrate per rimuovere le sequenze di bassa qualità ed i primer. Successivamente sono stati applicati altri passaggi che hanno consentito di raggruppare le sequenze identiche in un'unica sequenza attribuendone un rispettivo valore di "Abbondanza". Successivamente l'algoritmo alla base di DADA2 discernere quali sequenze sono un artefatto del sequenziamento e quali, invece, indicano una reale sequenza biologica, infine le sequenze vengono unite, la tassonomia viene assegnata utilizzando come riferimento il Silva Database (release 132) (Quast et al., 2013).

Analisi statistiche

I dati relativi alle performance delle scrofe sul numero di nati vivi, nati morti, numero di svezzati e mortalità sono stati analizzati su tutte le scrofe (146) utilizzando i seguenti modelli.

Per le variabili n° di nati vivi e n° di nati morti:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto)

Per la variabile n° di svezzati:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), numero di nati vivi, numero di allattati totali (post-adozioni/pareggiamenti, avvenuti entro 24h)

Il parametro "mortalità" è stato analizzato su tutte le scrofe in prova sia in numero che in % considerando nello specifico tre variabili: i) suinetti morti entro le 24 ore; ii) suinetti morti esclusi i suinetti morti entro 24 ore (quindi la mortalità successiva alle prime 24 h di vita); iii) suinetti morti durante l'intero periodo di prova (dalla nascita fino allo svezzamento, inclusi suinetti adottati).

Per la variabile suinetti morti entro le 24 h:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), numero di nati vivi

Per la variabile suinetti morti dalle 24 h in poi:

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), numero di allattati totali (post-adozione/pareggiamento, avvenuto entro 24h)

Per la variabile suinetti morti totali:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), numero di nati vivi

Le stesse variabili sono state inoltre analizzate nel sottogruppo delle 99 scrofe, così come l'IPG.

Per la variabile suinetti morti entro le 24 h:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), media peso iniziale PO della nidiata pre-adozioni

Per la variabile suinetti morti dalle 24 h in poi:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), media peso iniziale PO della nidiata post-adozione/pareggiamento (avvenuto entro le 24h), numero di allattati totali (post-adozione/pareggiamento, avvenuto entro 24h)

Per la variabile suinetti morti totali:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), media peso iniziale PO della nidiata post-adozione/pareggiamento (avvenuto entro le 24h)

Per la variabile IPG:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), banda (1, 2), numero di nati vivi, media del peso iniziale (PO) delle nidiate ((post-adozione/pareggiamento, avvenuto entro 24h), numero di allattati totali (post-adozioni/pareggiamenti, fatti entro 24h)

I dati delle misure di lardo dorsale e muscolo sono stati analizzati su tutte le scrofe in prova utilizzando i seguenti modelli, considerando come variabile dipendente il dato finale rilevato a tre giorni prima dello svezzamento (lardo finale o muscolo finale):

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), banda (1, 2), spessore del lardo iniziale, spessore del muscolo iniziale

I dati relativi alla composizione del colostro (grasso, caseine, proteine, cellule somatiche, urea, sostanza secca) sono stati analizzati sul sottogruppo di 99 (ad eccezione dei 28 scrofe per cui il laboratorio non ha potuto ottenere il dato) utilizzando i seguenti modelli.

Per la variabile % di grasso:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto)

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

Per la variabile % di caseina:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), banda (1, 2), spessore del muscolo iniziale, quantità di proteine totali,

Per la variabile quantità di cellule somatiche:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), spessore del lardo iniziale

Per la variabile % di lattosio:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: l'interazione tra dieta (CON vs TRT) e ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), banda (1,2)

Per la variabile quantità di urea:

modello ANOVA, considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), banda (1, 2)

Per la variabile % di residuo secco:

modello ANOVA considerando come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto).

I dati relativi alle concentrazioni delle Igs nel colostro e nella saliva delle scrofe sono stati analizzati sul sottogruppo di 99 scrofe utilizzando un modello ANOVA, in cui come sono stati utilizzati come fattori o covariate: dieta (CON vs TRT), ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo + nono parto), numero di piastra entro la quale il campione è stato analizzato ed il numero di suinetti nati vivi (solo quando significativo; per le IgA nel colostro).

Analisi Statistiche Microbiota

Le analisi statistiche su Alfa diversità, Beta diversità e composizione tassonomica sono state effettuate con software R v3.6, utilizzando i pacchetti PhyloSeq (McMurdie and Holmes, 2013), Vegan (Dixon, 2003) e lme4 (Bates et al., 2015). L'effetto dell'ordine di parto diviso in categorie (1: primo parto; 2: secondo parto; 3: terzo parto; 4: quarto + quinto parto; 5: sesto + settimo + ottavo

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

+ nono parto), della banda e del trattamento sono stati valutati tramite modello statistico ANOVA e PERMANOVA (procedura “adonis”) rispettivamente per gli indici di Alfa diversità e di Beta diversità (Bray curtis matrix). Le differenze in composizione tassonomica tra i due gruppi (TRT e CON) sono state analizzate utilizzando il pacchetto DESeq2 basato su modelli lineari generalizzati binomiali negativi (Love et al., 2014).

Risultati

Performance riproduttive delle scrofe e dei suinetti

Per quel che riguarda la statistica relativa alle performance riproduttive della scrofa, la dieta non ha influenzato il numero di nati vivi (14.6 e 14.0 suinetti in media rispettivamente nel CON e nel TRT) né il numero di nati morti (1.2 e 1 suinetto in media rispettivamente nel CON e nel TRT).

In **Tabella 5** sono riportate le medie e le significatività riferite ai parametri riproduttivi “numero di nati vivi” e “numero di nati morti” delle scrofe in funzione della categoria di parto. E’ risultata esserci una tendenza a un maggior numero di suinetti nati vivi nelle primipare rispetto alla categoria di parto 5 (da sesto parto in poi) ($P=0.094$).

Tabella 5. Statistica e relative medie dei parametri riproduttivi “numero di nati vivi” e “numero di nati morti” delle scrofe in funzione delle categorie di parto. P -value significativo se < 0.05 .

Categorie di parto	1	2	3	4	5	P-value	
Ordine di parto	1°	2°	3°	4° e 5°	6°; 7°; 8° e 9°	Dieta	Categoria parto
N° di nati vivi	15.1	13.9	15.0	14.3	13.4	0.17	0.068
N° di nati morti	1.17	0.83	0.5	1.52	1.44	0.39	0.06

*Sono stati inizialmente testati nel modello anche la banda e lo spessore del lardo iniziale, poi esclusi perché non significativi.

In **Tabella 6** sono riportate le significatività riferite al “numero di suinetti svezzati” per nidiata. La dieta non ha influenzato il numero di suinetti svezzati (stessa media sia nel CON che nel TRT, 11.8 suinetti), così come il numero di nati vivi, che non è risultato significativo. Il numero di svezzati è risultato essere invece influenzato positivamente dal numero di suinetti allattati (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h) ($P < 0.001$).

Tabella 6 Statistica relativa al parametro “numero di svezzati”. P -value significativo se < 0.05 .

Modello*	Dieta	N° di nati vivi	N° di allattati
N° di svezzati	0.67	0.11	6.733e-10

*Sono stati inizialmente testati nel modello anche la categoria di parto, la banda e lo spessore del lardo iniziale, poi esclusi perché non significativi

In **Tabella 7** sono riportate le significatività dei modelli testati per il parametro “mortalità”, che è stato analizzato su tutti gli animali in prova (146 scrofe). Sono stati considerati: i) il numero di

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

morti entro le 24 ore; ii) il numero di morti esclusi i suinetti morti entro 24 ore; iii) il numero di morti totale (dalla nascita fino allo svezzamento, inclusi suinetti adottati); iv) la % di morti entro le 24 ore, calcolata come % sul numero di suinetti nati vivi; v) % di morti esclusi i suinetti morti entro 24 ore, calcolata come % sul totale di suinetti allattati (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h); vi) la % di morti totale (dalla nascita allo svezzamento, inclusi i suinetti adottati), calcolata come % sul totale di suinetti nati vivi e adottati.

Tabella 7. Statistica relativa al parametro “mortalità” dei suinetti durante l’allattamento considerando tutti gli animali in prova (146). *P* value significativo se < 0.05.

Scrofe totali 146		
Modello ¹	Dieta	N° nati vivi
N° morti entro 24h	0.66	1.539e-05
% morti entro 24h	0.69	0.0009
Modello ¹	Dieta	N° allattati
N° morti da 24h in poi	0.18	0.0001
% morti da 24h in poi	0.18	0.02
Modello ²	Dieta	N° nati vivi
N° morti tot	0.20	3.297e-06
% morti tot	0.15	0.001

¹Sono stati inizialmente testati nei modelli anche la categoria di parto, la banda e lo spessore del lardo iniziale, poi esclusi perché non significativi

²Sono stati inizialmente testati nei modelli anche la categoria di parto, la banda, lo spessore del lardo iniziale e il numero di allattati totale post-adozioni, poi esclusi perché non significativi

Per tutti i parametri testati si è osservata una correlazione positiva con la covariante considerata ad esclusione della dieta che non è mai risultata essere significativa. In particolare, il numero di nati vivi per nidiata ha influenzato la mortalità entro le prime 24 ore dalla nascita ($P < 0.001$), mentre non si è rilevato alcun effetto della dieta. Inoltre, il numero di suinetti allattati per nidiata (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h) ha influenzato in modo significativo la mortalità successiva alle prime 24 ore di vita, ($P < 0.05$). Considerando infine la mortalità complessiva rilevata durante l'intero periodo di prova, il numero di nati vivi è di nuovo risultato essere significativo ($P < 0.001$).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 8. Medie del parametro “mortalità” riferite a ciascuna dieta.

	CON	TRT
N° morti entro 24h	0.91	0.82
% morti entro 24h	5.88	5.40
N° morti da24h in poi	1.28	1.03
% morti da 24h in poi	9.52	7.54
N° morti tot	2.19	1.84
% morti tot	14.2	11.7

Dato che i parti si sono protratti per 4 giorni, il tempo in cui le scrofe hanno effettivamente ricevuto la dieta integrata con gli amminoacidi prima e dopo il parto è risultato variabile (Tabella 4). Al fine di verificare l'eventuale influenza del tempo di somministrazione della dieta additivata con aminoacidi sui parametri di sopravvivenza della nidiata i dati sono stati analizzati suddividendo le scrofe del gruppo TRT in due sottoclassi: i. 2,3,4 giorni pre-parto; ii. 5,6,7 giorni pre-parto. I risultati non hanno mostrato alcun effetto del tempo di somministrazione sui parametri testati (dati non riportati).

Il parametro mortalità è stato poi testato nel sottogruppo delle 99 scrofe di cui si erano registrati anche i pesi dei singoli suinetti. In **Tabella 9** sono riportate le significatività dei modelli statistici testati per il parametro mortalità nel sottogruppo di scrofe. Sono stati considerati: ; i) il numero di morti entro le 24 ore; ii) il numero di morti esclusi i suinetti morti entro 24 ore; iii) il numero di morti totale (dalla nascita fino allo svezzamento, inclusi suinetti adottati); iv) la % di morti entro le 24 ore, calcolata come % sul numero di suinetti nati vivi; v) % di morti esclusi i suinetti morti entro 24 ore, calcolata come % sul totale di suinetti allattati (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h); vi) la % di morti totale (dalla nascita allo svezzamento, inclusi i suinetti adottati), calcolata come % sul totale di suinetti nati vivi e adottati. Per il parametro “morti entro le 24 h” nel modello si è utilizzata come covariata anche la media del peso iniziale della nidiata (P0) prima del pareggiamento (entro le 24h), che nello specifico è risultata di 1377 e 1295 grammi rispettivamente nel TRT e nel CON. Per i parametri “morti da 24 h in poi” e “morti totali” nel modello si è utilizzata come covariata anche la media del peso iniziale della nidiata (P0) post-pareggiamento (avvenuto entro le 24 h), che nello specifico è risultata essere di 1317 e 1360 grammi rispettivamente nel TRT e nel CON.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 9. Statistica relativa al parametro “mortalità” dei suinetti durante l’allattamento considerando il sottogruppo delle 99 scrofe. *P* value significativo se < 0.05.

Scrofe sottogruppo 99			
Modello¹	Dieta	Media P0 pre-adozioni	
N° morti entro 24h	0.55	0.03	
% morti entro 24h	0.95	0.04	
Modello²	Dieta	Media P0*	N° allattati
N° morti da 24h in poi	0.09	0.007	0.01
% morti da 24h in poi	0.08	0.007	0.16
Modello³	Dieta	Media P0*	
N° morti tot	0.04	0.0004	
% morti tot	0.14	0.002	

* è la media peso nidiata iniziale post-adozioni

¹Sono stati inizialmente testati nei modelli anche la categoria di parto, la banda e i nati vivi, poi esclusi perché non significativi

²Sono stati inizialmente testati nei modelli anche la categoria di parto e la banda, poi esclusi perché non significativi

³Sono stati inizialmente testati nei modelli anche la categoria di parto, la banda, il numero di allattati totale post-adozioni e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi.

Considerando sia il numero che la % di suinetti morti entro le 24 ore, la dieta non ha influenzato i parametri, mentre su entrambi si è osservata una significatività della media del peso iniziale P0 della nidiata pre-adozioni (che è la media P0 della nidiata della scrofa prima dei pareggiamenti, che esclude quindi gli adottati) ($P < 0.05$).

Considerando il numero di suinetti morti esclusi quelli morti entro le 24 ore, l’effetto della media del peso iniziale P0 della nidiata e del numero di allattati (post-pareggiamento, entro le 24h) sono risultati significativi ($P < 0.05$). E’ risultata inoltre esserci una tendenza della dieta ($0.1 < P < 0.05$), con una minore mortalità nel TRT (0.95) rispetto al CON (1.35). Considerando la % di morti esclusi quelli morti entro le 24 ore, l’effetto della media del peso iniziale P0 della nidiata (post-pareggiamento, entro le 24h) è risultato significativo ($P < 0.05$), mentre è risultata esserci una tendenza della dieta ($0.1 < P < 0.05$), con minore mortalità nel TRT (6.82%) rispetto al CON (9.96%).

Considerando infine la mortalità complessiva dell’intero periodo di prova, essa è stata influenzata significativamente dalla media del peso iniziale P0 della nidiata (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h) ($P < 0.001$) e dalla dieta ($P < 0.05$), con una minore mortalità nel TRT (1.51) rispetto al CON (2.16). Considerando la % di morti totale, è risultata significativa la media del peso iniziale P0

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

della nidiata (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h) ($P < 0.05$) mentre la dieta non ha influenzato il parametro.

In **Tabella 10** sono riportate le medie per ciascuna dieta delle variabili “suinetti morti entro le 24 h”, “suinetti morti da 24 h in poi” e “suinetti morti nell’intero periodo di prova”, sia in numero che in %.

Tabella 10. Medie relative alle variabili analizzate per il parametro “mortalità dei suinetti” nelle rispettive diete.

	TRT	CON
N° morti entro 24 h	0.620	0.752
% morti entro 24 h	4.73	4.82
N° morti da 24h in poi	0.95	1.35
% morti da 24h in poi	6.82	9.96
N° morti tot	1.51 ^a	2.16 ^b
% morti tot	10.7	14.1

In **Tabella 11** sono riportate le significatività del modello testato per il parametro IPG (incremento ponderale giornaliero), calcolato come IPG medio della nidiata, sul sottogruppo delle 99 scrofe.

Tabella 11. Statistica relativa al parametro “IPG”. P value significativo se < 0.05 .

Modello	P value					
	dieta	Cat. di parto	banda	N° nati vivi	Media PO*	N° allattati
IPG (g)	0.57	0.045	0.04	0.24	8.12e-09	0.71

* è la media peso nidiata iniziale post-adozioni

La dieta non ha influenzato l’IPG medio delle nidiata, così come il numero di nati vivi e di allattati (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24h). E’ risultato significativo invece l’effetto della banda, della categoria di parto ($P < 0.05$) e della media del peso iniziale PO della nidiata (post-pareggiamento, avvenuto entro le 24 h) ($P < 0.001$). In particolare, per le categorie di parto, è risultata significativa la differenza tra primipare rispetto alla categoria di parto 4 (ordine di parto 4° e 5°), con maggiore IPG in quest’ultima.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 12. Medie relative al parametro “IPG” delle nidiare (grammi) nelle diverse categorie di parto (dove 4 rappresenta quarto e quinto parto e 5 rappresenta gli ordini di parto dal sesto in poi).

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
IPG (g)	5805 ^a	6073 ^{a,b}	6145 ^{a,b}	6450 ^b	6006 ^{a,b}

Lardo e muscolo dorsale

In **Tabella 13** sono riportate le medie dello spessore di lardo e muscolo (mm) rispettivamente nel gruppo CON e TRT alla prima rilevazione (iniziale) e alla seconda (finale), e le significatività dei modelli statistici testati.

Tabella 13. Medie e statistica relativa ai modelli testati per i parametri “spessore di lardo” e “spessore di muscolo dorsale” rilevate al P2. *P* value significativo se < 0.05.

Spessore (mm)	CON	TRT	<i>P</i> value			
			<i>dieta</i>	<i>banda</i>	<i>Lardo iniziale</i>	<i>Muscolo iniziale</i>
Lardo iniziale	15.35	14.73				
Lardo finale	13.03	13.11	0.66	0.065	0.009	0.04
Muscolo iniziale	42.71	44.20				
Muscolo finale	36.27	37.17	0.90	0.001	0.02	5.362e-12

*Sono stati inizialmente testati nel modello anche la categoria di parto e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi

La dieta non ha influenzato lo spessore finale del lardo dorsale, così come la categoria di parto, la banda e il numero di nati vivi. D’altro canto, lo spessore del lardo iniziale ha influenzato significativamente lo spessore del lardo finale, così come lo spessore del muscolo iniziale, come fisiologicamente atteso. Anche per la misura del muscolo dorsale, la dieta non ha influenzato lo spessore, così come la categoria di parto e il numero di nati vivi. Oltre alla significatività attesa data dallo spessore del lardo iniziale e del muscolo iniziale, è risultato significativo l’effetto della banda. Inoltre, si è riscontrato lo stesso effetto significativo anche sullo spessore del muscolo iniziale ($P < 0.05$), per cui l’effetto banda è effettivamente riconducibile a un diverso spessore di muscolo tra le due bande sin dall’inizio della prova. In **Tabella 14** sono riportate le medie dello spessore del muscolo iniziale e finale rispettivamente nella banda 1 e nella banda 2.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 14. Medie relative a spessore del muscolo iniziale e finale nelle due bande

Spessore (mm)	Banda 1	Banda 2
Muscolo iniziale	44.7	42.3
Muscolo finale	35.4	37.9

Qualità del colostro

In **Tabella 15** sono riportate le medie dei parametri analizzati nel colostro prelevato sul sottogruppo delle 99 scrofe. La media delle cellule somatiche è stata calcolata su un numero inferiore di animali in quanto non è stato possibile analizzare il dato di 28 animali della banda 1 (20 dal CON e 8 dal TRT).

Tabella 15. Medie relative ai parametri della qualità del colostro nel sottogruppo delle 99 scrofe.

	CON	TRT
Grasso (% m/m)	6.46	6.41
Caseina (% m/m)	6.25	6.27
Proteine (% m/m)	8.92	8.97
Lattosio (% m/m)	2.85	2.93
Cellule somatiche (x 1000/ml)	2918	3003
Urea (mg/100ml)	52.5	52.2
Sostanza secca (% totale)	19.1	19.2

In **Tabella 16** sono riportate le significatività dei modelli statistici testati per il parametro “grasso” (% m/m), “caseina” (% m/m), “cellule somatiche” (x 1000/ml), “lattosio” (% m/m), “urea” (mg / 100 ml), “sostanza secca” (%) nella composizione del colostro.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 16. Statistica relativa ai parametri testati della qualità del colostro. *P* value significativo se < 0.05

	Colostro				
Modello¹	Dieta	Cat. di parto			
% grasso	0.79	4.329e-06			
Modello²	Dieta	Cat. di parto	banda	Muscolo iniziale	Proteine totali (%)
% caseina	0.62	0.004	< 2.2e-16	0.60	< 2.2e-16
Modello³	Dieta	Cat. di parto	Lardo iniziale		
Cellule somatiche	0.52	2.937e-09	0.19		
Modello⁴	Dieta	Cat. di parto	banda	Dieta*Cat. di parto	
% Lattosio	0.14	0.031	0.0003	0.048	
Modello	Dieta	Cat. di parto	banda		
Urea	0.93	0.99	0.053		
Modello¹	Dieta	Cat. di parto			
% sostanza secca	0.47	0.00059			

¹Sono stati inizialmente testati nel modello anche la banda, il lardo iniziale e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi

²Sono stati inizialmente testati nel modello anche il lardo iniziale e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi

³Sono stati inizialmente testati nel modello anche la banda e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi

⁴Sono stati inizialmente testati nel modello anche il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi.

La dieta non è risultata significativa per nessuno dei parametri testati.

Considerando la % di grasso nel colostro, si è rilevata una differenza significativa tra le categorie di parto, con % significativamente maggiore nelle primipare ($P < 0.05$), rispetto a tutte le altre categorie di parto. La **Tabella 17** riporta le medie nelle diverse categorie di parto, dove 4 rappresenta quarto e quinto parto e 5 rappresenta gli ordini di parto dal sesto in poi.

Tabella 17. % media di grasso nel colostro nelle diverse categorie di parto

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
Grasso % m/m	8.37 ^a	6.24 ^b	6.30 ^b	5.08 ^b	6.27 ^b

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Per quel che riguarda il parametro “caseina”, esso è risultato influenzato significativamente dalla % di proteine totali, come fisiologicamente atteso. Inoltre, si è rilevata una differenza significativa nella % di caseina nel colostro tra le categorie di parto, come mostrato dalle medie in **Tabella 18**, con una % di caseina significativamente minore nelle primipare rispetto al gruppo 4 ($P < 0.05$), e nelle secondipare rispetto al gruppo 4 e 5 ($P < 0.05$).

Tabella 18. % media di caseina nel colostro nelle diverse categorie di parto

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
Caseina % m/m	6.25 ^{a,c}	6.25 ^a	6.28 ^{a,b,c}	6.29 ^b	6.29 ^{b,c}

La % di caseina nel colostro è poi risultata essere significativamente influenzata dalla banda. In **Tabella 19** sono riportate le medie della % di caseina nel colostro rispettivamente nella banda 1 e nella banda 2.

Tabella 19. % media di caseina nel colostro nelle due bande.

	Banda 1	Banda 2
Caseina % m/m	6.34	6.20

Riguardo al parametro “cellule somatiche”, si è ritrovata una differenza significativa data dalle diverse categorie di parto ($P < 0.05$), come mostrato in **Tabella 20**, che riporta le medie nelle diverse categorie di parto, dove 4 rappresenta quarto e quinto parto e 5 rappresenta gli ordini di parto dal sesto in poi. La quantità di cellule somatiche è risultata essere significativamente maggiore nelle primipare ($P < 0.0001$) rispetto a tutte le altre categorie di parto.

Tabella 20. composizione media in cellule somatiche nel colostro nelle diverse categorie di parto

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
Cellule somatiche x 1000/ml	9346 ^a	3060 ^b	2877 ^b	1184 ^b	1030 ^b

Considerando la % di lattosio nel colostro, esso è risultato significativamente influenzato della banda e da un'interazione tra dieta e categoria di parto ($P < 0.05$). In **Tabella 21** sono riportate le medie della % di lattosio nelle due diete e nelle diverse categorie di parto dove 4 rappresenta quarto e quinto parto e 5 rappresenta gli ordini di parto dal sesto in poi. Nello specifico, l'interazione tra dieta e categoria di parto è risultata esserci nella differenza significativa ($P < 0.05$) tra la % di lattosio nelle secondipare (minore) rispetto alla categoria di parto 4 (maggiore).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 21. % media di lattosio nel colostro nelle diverse categorie di parto e nelle due diete

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
% lattosio - CON	2.93 ^{a,b}	2.52 ^a	2.92 ^{a,b}	3.21 ^b	2.90 ^{a,b}
% lattosio - TRT	2.61	2.77	2.88	3.18	3.05

In **Tabella 22** sono riportate le medie della % di lattosio nelle due bande, che è risultata essere significativamente maggiore nella seconda banda rispetto alla prima ($P < 0.001$).

Tabella 22. % media di lattosio nel colostro nelle due bande.

	Banda 1	Banda 2
Lattosio % m/m	2.72	3.08

Considerando la quantità di urea nel colostro, è risultata esserci una tendenza ($0.1 < P < 0.05$) della banda.

Riguardo il parametro “% di sostanza secca”, esso è risultato essere significativamente influenzato dalla categoria di parto. In particolare, la % di sostanza secca è risultata più alta nelle primipare rispetto alla categoria di parto 4 (quarto e quinto parto) e alla categoria di parto 5 (dal sesto parto in poi) ($P < 0.05$), e più alta nelle secondipare rispetto alla categoria di parto 4 ($P < 0.05$).

In **Tabella 23** sono riportate le medie della % di residuo secco nelle diverse categorie di parto dove 4 rappresenta quarto e quinto parto e 5 rappresenta gli ordini di parto dal sesto in poi.

Tabella 23. % media di sostanza secca nel colostro nelle categorie di parto

	1	2	3	4 (4+5)	5 (6+7+8+9)
% sostanza secca	20.7 ^a	19.5 ^{a,b}	19.3 ^{a,b,c,d}	17.6 ^{c,d}	18.7 ^{b,d}

Immunoglobuline

In **Tabella 24** sono riportate i risultati per l'effetto della dieta e della categoria di parto sulle concentrazioni di IgA, IgG ed IgM nel colostro e per la concentrazione di IgA e IgG nella saliva. La dieta non ha influenzato le concentrazioni di IgG e IgM nel colostro, mentre la concentrazione di IgA è risultata superiore nel colostro di scrofe del gruppo TRT (15.60 mg/mL) rispetto a CON (12.10 mg/mL) (P -value =0.002). Inoltre la concentrazione di Igs (IgA e IgM) nel colostro è risultata significativamente influenzata dalla categoria di parto delle scrofe (**Figura 1**). In particolare le scrofe primipare hanno mostrato una concentrazione di IgA inferiore rispetto alle scrofe secondipare (P -value =0.02); mentre la concentrazione di IgM delle scrofe primipare è risultata superiore rispetto alla concentrazione osservata nelle scrofe afferenti alle categorie di parto 4

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

(ordine di parto 4+5) e 5 (ordine di parto 6+7+8+9) (P -value < 0.05). La concentrazione di IgA e IgG nella saliva non è risultata differente tra i due gruppi (P -value > 0.05). La categoria di parto ha influenzato la concentrazione di IgA nella saliva; scrofe primipare hanno mostrato una concentrazione salivare di IgA inferiore rispetto a scrofe terzipare. La concentrazione salivare di IgG non è risultata influenzata dalla categoria di parto.

Tabella 24. Effetto della dieta e della categoria di parto sulla concentrazione (mg/mL) di Igs su colostro e saliva.

Igs mg/mL ¹	Dieta				Categoria parto						
	CON	TRT	SE	P -value	1	2	3	4	5	SE	P -value
Colostro											
IgA	12.1	15.6	0.98	0.002	11.1 ^a	16.1 ^b	15.5 ^{a,b}	11.7 ^{a,b}	14.8 ^{a,b}	0.72	0.011
IgG	36.7	53.7	14.3	0.192	65.0	29.9	20.7	39.2	71.0	19.00	0.095
IgM	2.58	2.26	0.16	0.104	3.13 ^a	2.52 ^a	2.48 ^a	2.18 ^b	1.80 ^b	0.24	0.003
Saliva											
IgA	0.85	0.84	0.17	0.970	0.56 ^a	0.61 ^a	1.24 ^b	1.16 ^{a,b}	0.68 ^{a,b}	0.20	0.040
IgG	0.22	0.27	0.04	0.320	0.20	0.22	0.33	0.21	0.26	0.06	0.430

¹Sono stati inizialmente testati nel modello anche la banda, il lardo iniziale e il numero di nati vivi, poi esclusi perché non significativi per IgM e IgG nel colostro. Il numero di nati vivi è risultato invece significativo (P -value= 0.043; coef= 0.21) per le IgA nel colostro.

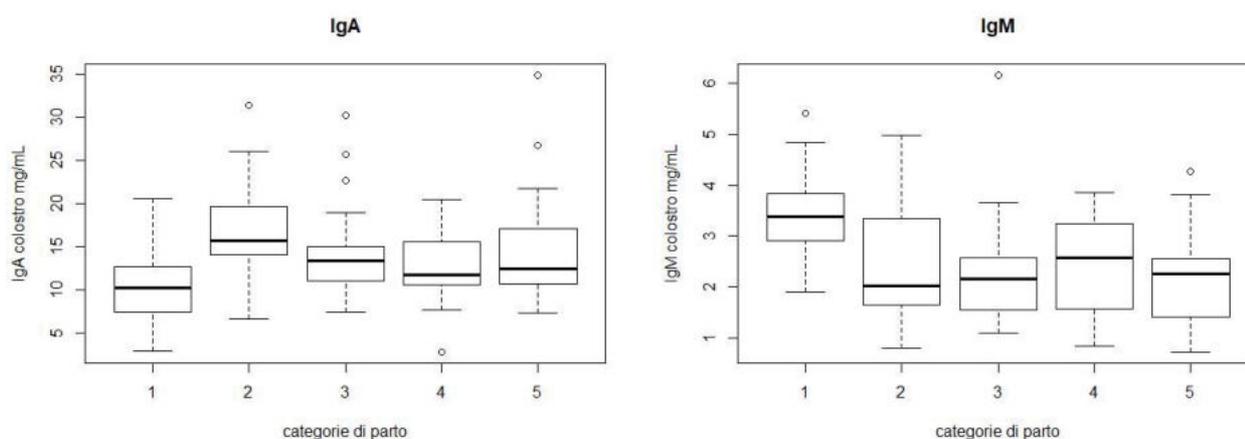


Figure 1. Effetto della categoria di parto sulla concentrazione mg/mL di IgA e IgM nel colostro

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Microbiota

Tutti i campioni sottoposti al sequenziamento della regione V3-V4 hanno prodotto in media un buon numero di sequenze (43400 in media). Le curve di rarefazione, considerate un controllo qualitativo del metodo di sequenziamento, riportate in **Figura 2** rappresentano il numero di unità tassonomiche (ASV, amplicon sequence variant) identificate in relazione alla profondità di sequenziamento. Nel complesso, tutti i campioni hanno raggiunto il punto di plateau indicando che la procedura di sequenziamento è stata in grado di identificare tutta la variabilità tassonomica presente in quello specifico ecosistema, dimostrando pertanto che il sequenziamento è stato ottimale.

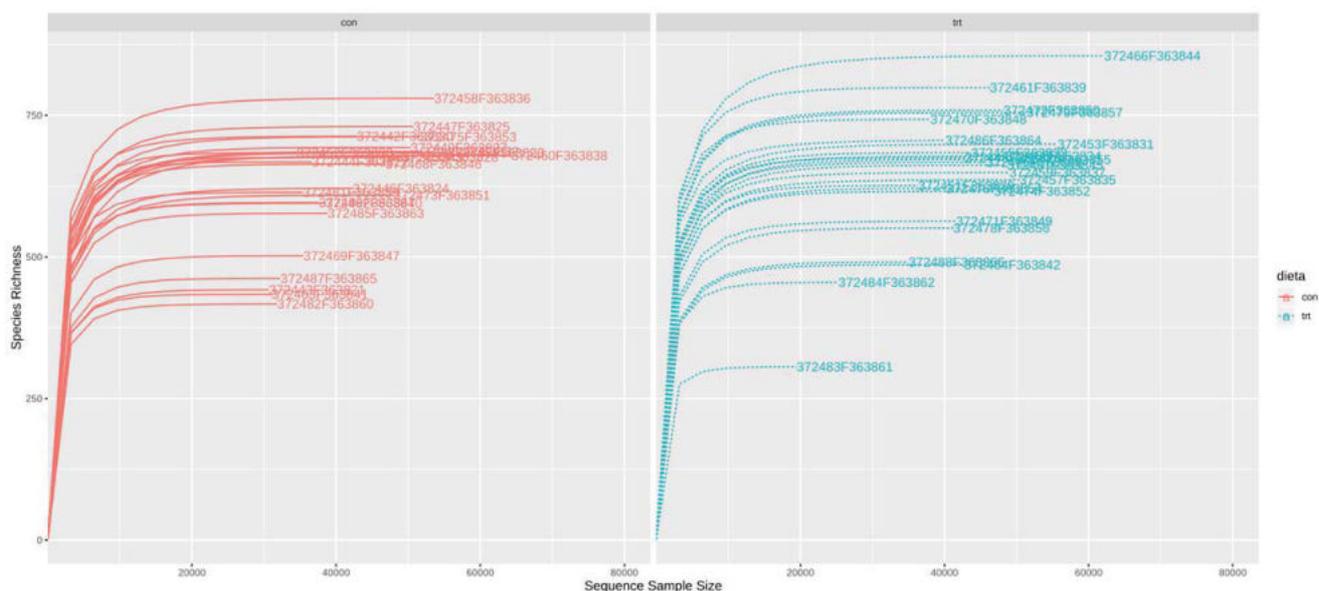


Figura 2. Curve di rarefazione

I valori di Alfa diversità (differenze all'interno del gruppo) per Chao1, Shannon e Simpson

(**Figura 3**) sono riportati in **Tabella 25**. Il gruppo trattato ha avuto un valore significativamente più basso per Chao1 rispetto al controllo. (NB: i fattori Categoria di parto e Banda sono stati rimossi dall'analisi perché non significativi).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 25. Media dei valori di Alfa diversità.

Alfa	CON	TRT	SE	df	P value
Chao1	668	623	14.3	45	0.031 *
Shannon	5.49	5.39	0.05	45	0.239
Simpson	105.1	96.7	9.36	45	0.533

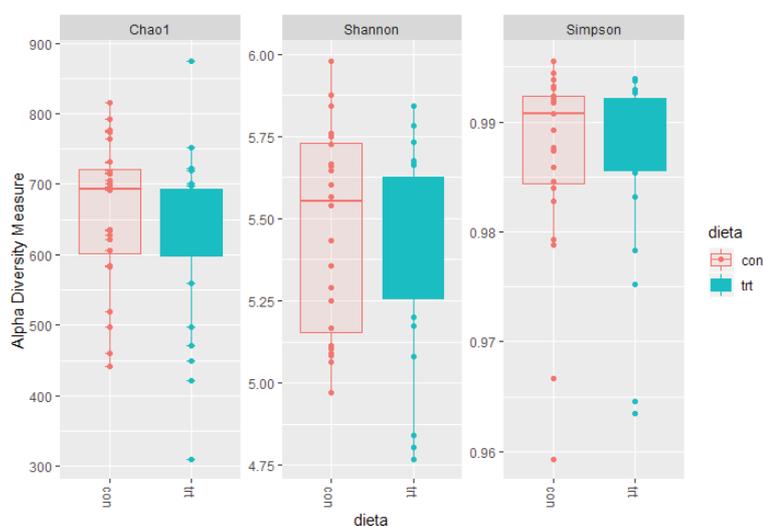


Figura 3 Alfa diversità per Chao1, Shannon e Simpson per il gruppo di controllo e per il trattato

Per la Beta diversità, differenza in composizione microbiologica tra gruppi, non sono emerse differenze significative tra i due gruppi (**Tabella 26**). Il grafico NMDS (non metric multidimensional scaling) riportato in **Figura 4** conferma quanto osservato con il test statistico in quanto non è possibile identificare dei cluster netti fra le due diete. Sono tuttavia state riscontrate delle differenze significative nella composizione microbiologica fecale tra scrofe di categorie di parto diverse (**Tabella 26**).

Tabella 26. Risultati test Adonis per Dieta e Categoria di Parto (Cat_parto2)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R2	p.value
Dieta	1	0.1968	0.19682	1.0828	0.023	0.277
Residuals	46	8.3611	0.18176		0.977	
Total	47	8.5579			1	
CAT_parto	4	1.0318	0.25794	1.4737	0.12056	0.003**
Residuals	43	7.5261	0.17503		0.87944	
Total	47	8.5579			1	

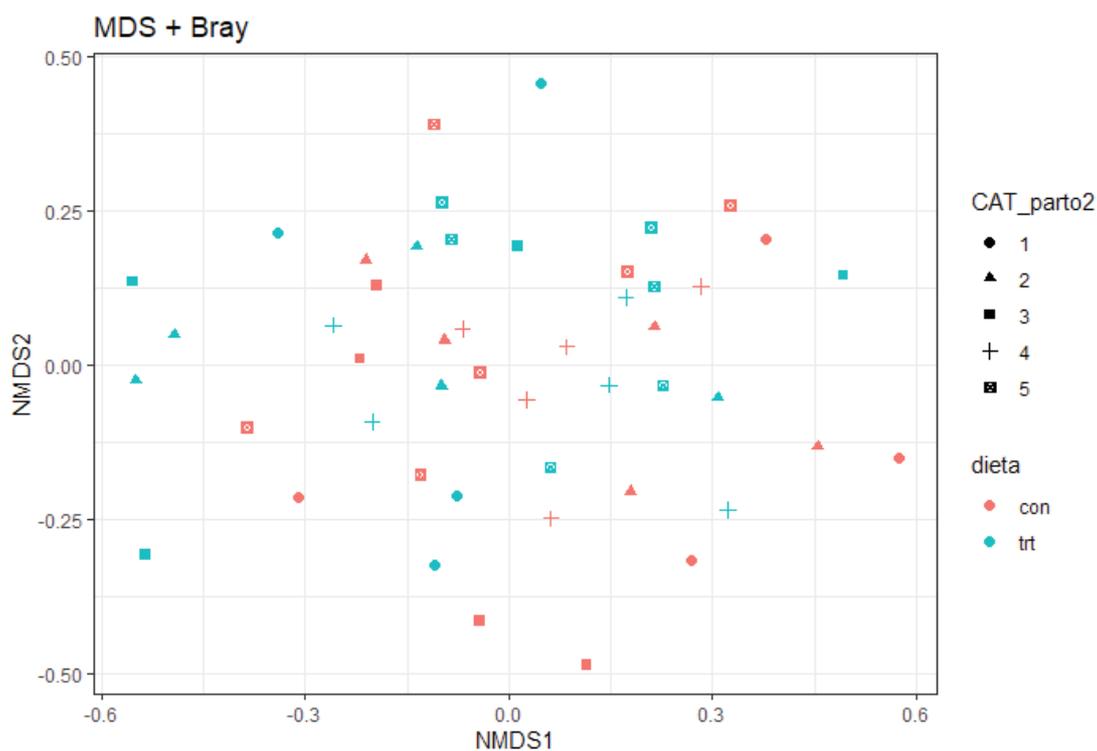


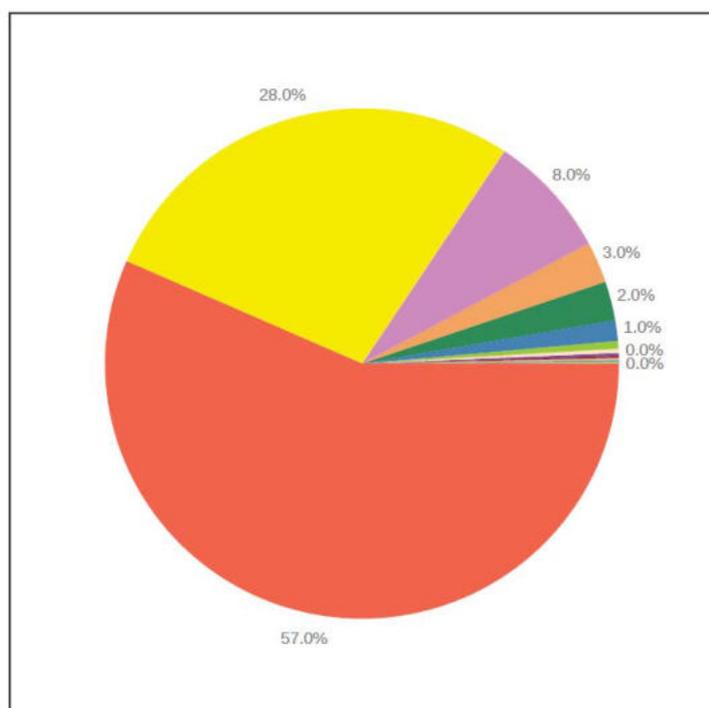
Figura 4. NMDS plot usando come matrice di distanza Bray-Curtis (Trattamento e Ordine di Parto)

Infine, per quanto riguarda la composizione tassonomica, l'algoritmo utilizzato da DEseq2 non ha evidenziato differenze significative tra i due gruppi a livello tassonomico di Phylum **Figura 5** e Famiglia **Figura 6**. Un'unica differenza è stata evidenziata a livello di ASV (ASV_475; log₂FC:-10.43; FDR:1.1882E-7) riportata in **Figura 7** rispetto l'abbondanza relativa di batteri appartenenti all'ordine dei Bacteroidetes.

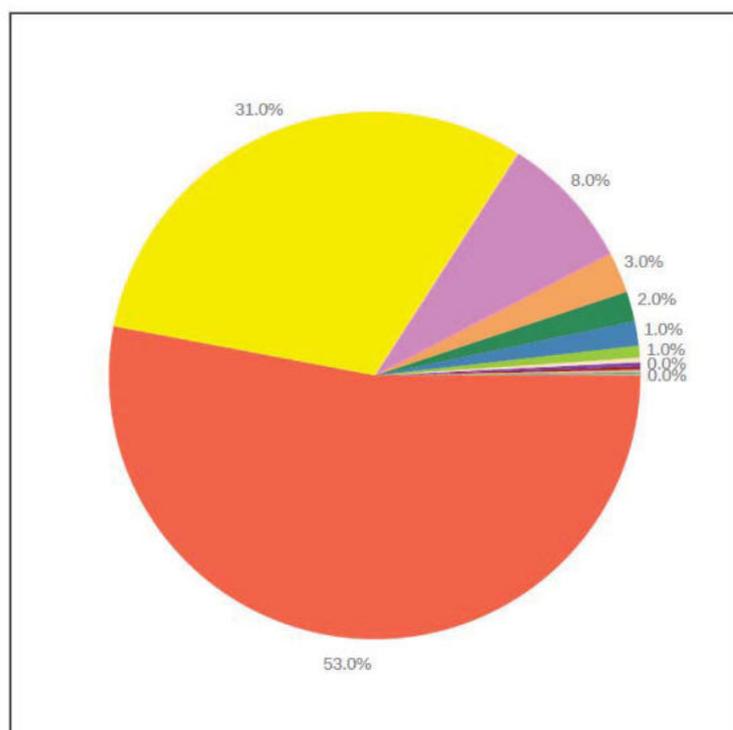
In conclusione, La composizione microbiologica osservata è in linea con quella osservata in altri studi (Kim et al., 2015; Zhang et al., 2017) e non è stata influenzata dalla dieta.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Figura 5. Abbondanza percentuale a livello di Phylum per i due gruppi controllo (a), trattato (b)

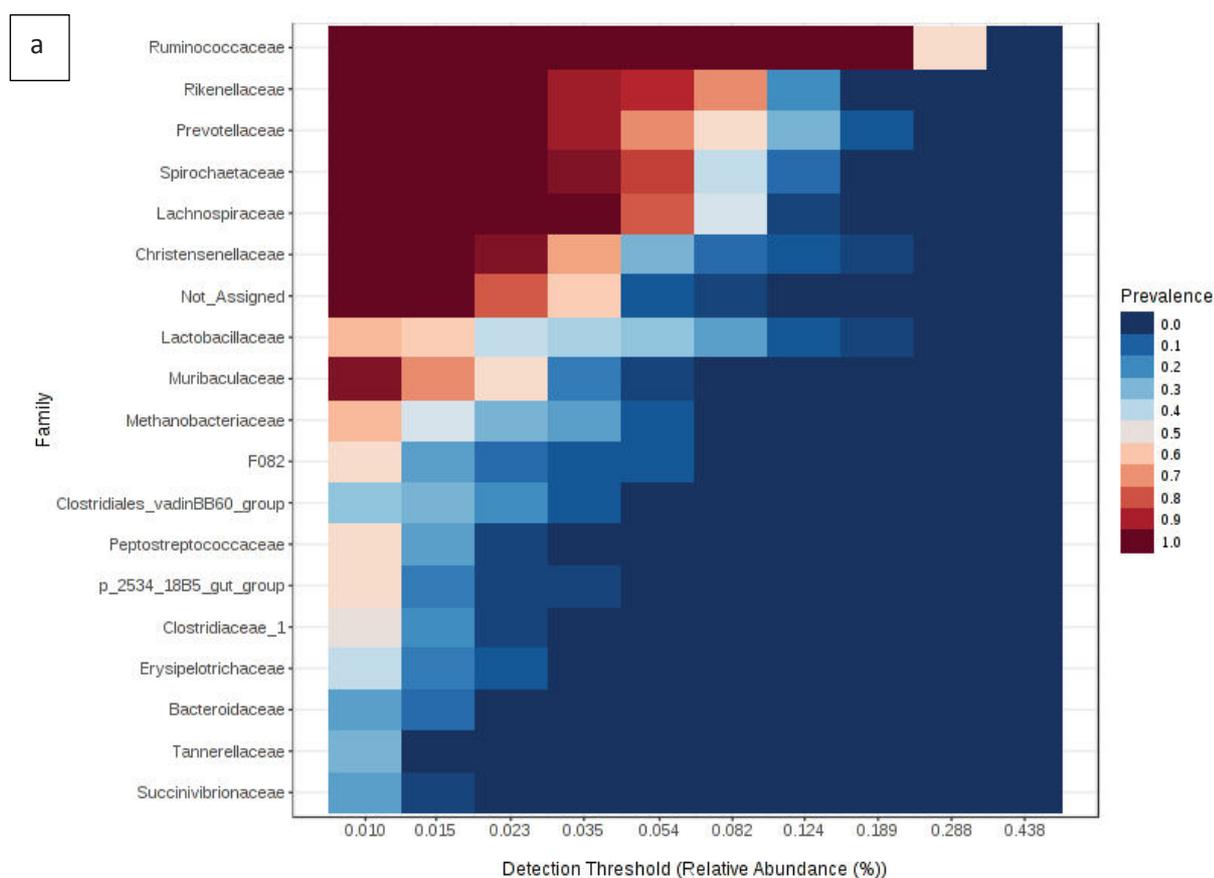


b



Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Figura 6. Heatmap che rappresenta il core microbiota a livello di Famiglia per i due gruppi controllo (a) e trattato (b), dove l'asse Y rappresenta il livello di prevalenza (definita come frazioni minima percentuale di campioni in cui è necessario osservare un taxa) delle Famiglie principali attraverso l'intervallo della soglia di rilevamento (abbondanza relativa) sull'asse X



Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

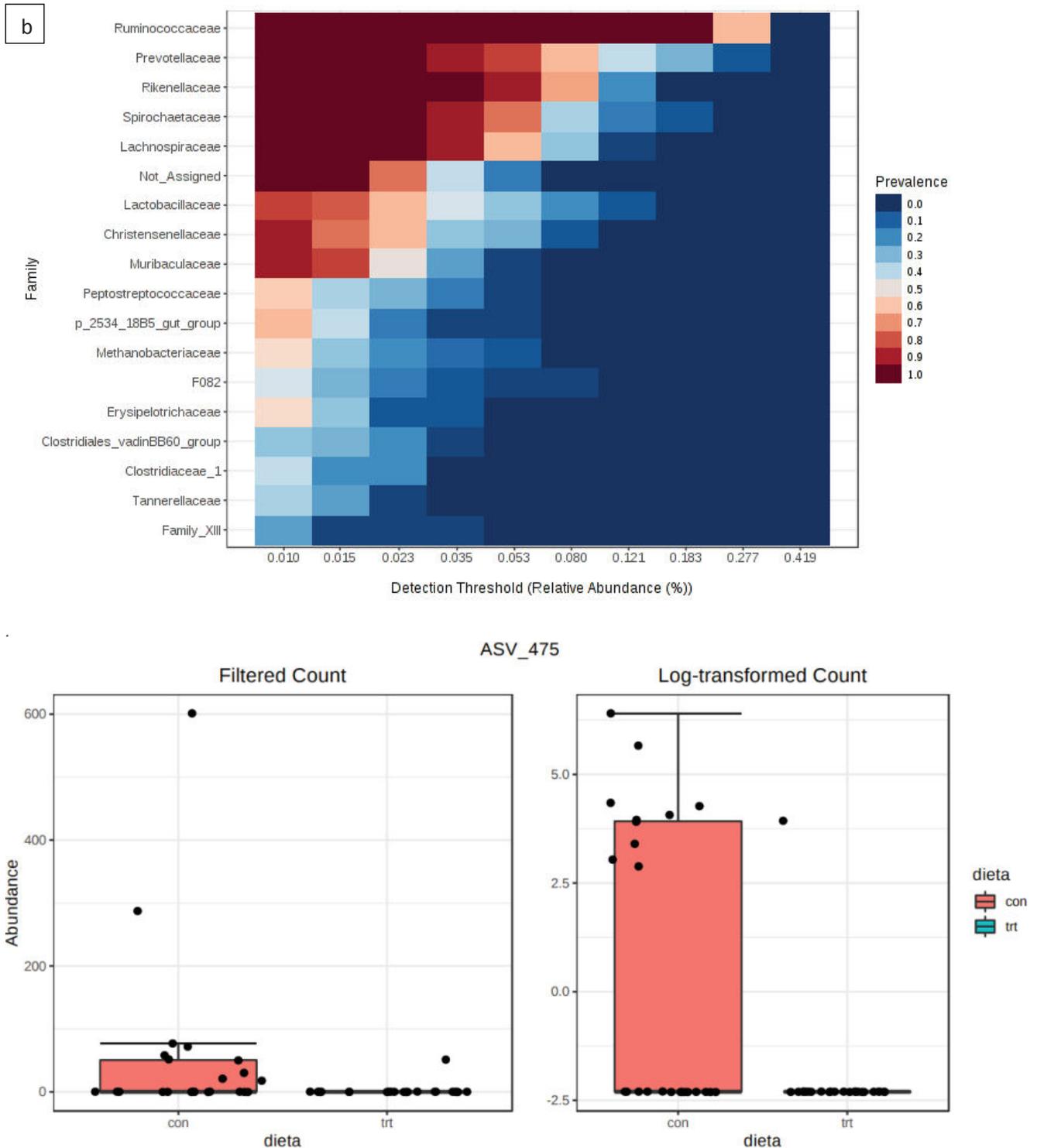


Figura 7. Box plot abbondanza media ASV 475 (Ordine Bacteroidetes) nel gruppo di controllo e il trattato.

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

In conclusione la dieta arricchita con aminoacidi di sintesi (Tryptofano, Treonina e Valina) nel periparto, ha ridotto il numero di suinetti morti sottoscrofa. Tale effetto si può attribuire ad un aumento della concentrazione di immunoglobuline (IgA) nel colostro. Per quanto riguarda il microbiota non si sono evidenziate differenze, questo può essere dovuto al fatto che la dieta è stata somministrata per un periodo relativamente breve o alla resilienza del microbiota della scrofa che a 20 giorni dal termine della somministrazione della dieta sperimentale ha riacquisito una composizione comparabile a quella delle scrofe alimentate con la dieta di controllo.

Riferimenti Bibliografici

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

Dixon, P., 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science* 14, 927–930. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>

Kim, J., Nguyen, S.G., Guevarra, R.B., Lee, I., Unno, T., 2015. Analysis of swine fecal microbiota at various growth stages. *Arch Microbiol* 197, 753–759. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1108-1>

Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE* 8, e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>

Zhang, Y., Lu, T., Han, L., Zhao, L., Niu, Y., Chen, H., 2017. L-Glutamine Supplementation Alleviates Constipation during Late Gestation of Mini Sows by Modifying the Microbiota Composition in Feces [WWW Document]. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2017/4862861>

REPORT FINALE

PSR AGRICOLA TRE VALLI

AZIONE 3.3

Migliorare la robustezza degli animali promovendo l'eubiosi del tratto gastrointestinale nei lattonzoli

Prof. Paolo Trevisi e Prof. Paolo Bosi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari - Università di Bologna

Introduzione

La robustezza è stata definita da Colditz e Hine (2016), come la capacità di un animale di mantenere un determinato fenotipo indipendentemente dalle caratteristiche dell'ambiente esterno. Una componente chiave della robustezza, definita resilienza, è pertanto la capacità di far fronte alle perturbazioni ambientali e di tornare rapidamente allo stato "pre-sfida" (Revilla et al., 2019; Colditz and Hine, 2016). Il miglioramento della robustezza e della resilienza dell'animale concorrono pertanto al miglioramento delle performance produttive e alla sopravvivenza dei suinetti. La mortalità dei suinetti rimane uno dei parametri produttivi maggiormente critici per la produttività economica e la sostenibilità etica del settore suinicolo (Heuß et al., 2019). In particolare, la mortalità pre-svezzamento ricopre una percentuale elevata della mortalità globale registrata per il suino (PROHEALTH). Le cause della mortalità dei suinetti sono diverse e spesso interagiscono tra loro. Oltre al peso vivo alla nascita, alla numerosità della nidiata e alla sua omogeneità e all'assunzione di colostro nelle prime ore di vita, l'adeguato sviluppo del sistema immunitario del suinetto gioca un ruolo fondamentale sulla sua sopravvivenza (Revilla et al., 2019; Heuß et al., 2019; Yung et al., 2015), in quanto ha un ruolo cruciale nel mantenere il suinetto in uno stato di salute preservandone l'equilibrio e contrastando i potenziali agenti patogeni. È noto che il sistema immunitario del neonato sia meno sviluppato e organizzato rispetto a quello degli adulti, in particolare nel suinetto, che alla nascita risulta immunodeficiente a causa del tipo di placentazione materna (epitelio-coriale), che non permette il passaggio né degli anticorpi né delle cellule immunitarie dalla scrofa ai feti.

Lo sviluppo iniziale del sistema immunitario è dipendente da diversi fattori tra cui antigeni e anticorpi di origine materna, il background genetico dell'ospite, la dieta e l'interazione con il microbiota intestinale (Stokes et al., 2017). Il ruolo chiave dei batteri commensali per lo sviluppo del sistema immunitario intestinale è stato infatti osservato in particolare durante il periodo neonatale, quando l'intestino inizialmente sterile inizia ad essere colonizzato dai batteri (Smith et al., 2007).

In questo contesto, la somministrazione di probiotici nei primi giorni di vita del suinetto (imprinting) ha fornito interessanti evidenze sulla possibilità di guidare l'insediamento di un profilo microbico "benefico" per favorire l'eubiosi intestinale, concorrendo al miglioramento della robustezza dei suinetti in termini di performance produttive, sopravvivenza e riduzione degli effetti negativi tipici della sindrome diarroica da post-svezzamento (Kenny et al., 2011; Taras et al., 2006). Sebbene siano presenti diversi studi sperimentali che evidenzino l'effetto positivo della somministrazione precoce di probiotici (Wang et al., 2019; Kiros et al., 2019; Wang et al., 2016; Taras et al., 2006), studi che riportino l'efficacia della probiotosi in situazioni di campo sono ancora limitati. Così come risulta tuttora limitata la conoscenza dell'effetto della somministrazione precoce di probiotici sulla composizione del microbiota intestinale nel breve e nel lungo periodo.

Obiettivo

Studio dell'efficacia di una somministrazione orale con inoculo batterico in suinetti neonati nel migliorarne la salute e l'accrescimento nella fase lattazione-svezzamento.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato condotto nella scrofaia associata al Progetto di filiera Agricola Tre Valli (Azienda agricola S.A. La Pellegrina, Roncoferraro (MN)) finanziato nell'ambito del PSR dell'Emilia-Romagna. La scrofaia ha il ciclo produttivo basato su bande bi-settimanali.

Disegno sperimentale e campionamenti

La prova ha coinvolto un totale di 820 suinetti nati da 64 scrofe. Lo schema generale dell'esperimento è riportato in **Figura 1**. Sessantaquattro scrofe sono state casualmente selezionate tra le scrofe presenti in azienda ed appartenenti alla stessa banda e divise, bilanciando ordine di parto e numerosità della nidiata alla nascita e peso medio dei suinetti alla nascita nei seguenti quattro gruppi (16 scrofe per gruppo): Controllo (CO), probiotico A (A), probiotico B (B) o probiotico A +B (A+B) (**Tabella 1**).

Tabella1. Distribuzione delle scrofe in prova

GRUPPO ¹	Ordine Parto		Peso medio T0 suinetto, g		N. suinetti nidiata		N. scrofe	N. suinetti
	Media	D.S.	Media	D.S.	Media	D.S.		
A	4.31	2.47	1442.75	291.56	13.06	1.39	16	204
B	4.25	2.65	1443.56	241.86	13.12	1.36	16	207
A+B	4.31	2.09	1453.40	219.00	13.12	1.15	16	204
CO	4.19	2.59	1455.99	203.71	12.81	1.47	16	207

¹ CO=4 ml di acqua sterile; A= 4 ml di 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM-1079 (Lallemand Animal Nutrition); B = 4 ml di 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200 (Chr Hansen); A+B = 4 ml di mix dei due probiotici 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* cncm-1079 ed 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200

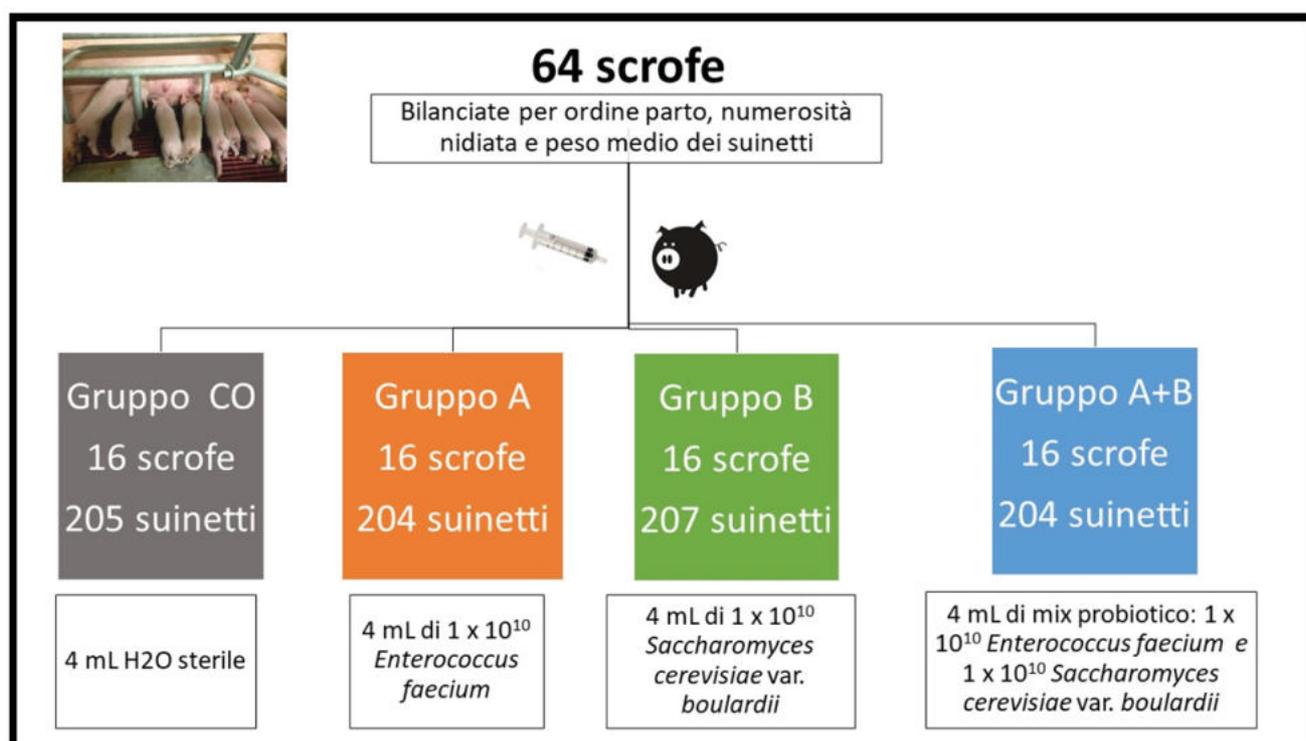


Figura 1. Schema generale dell'esperimento.

Tra le 24 e le 48 ore dalla nascita (T₀), ai suinetti di ognuno dei 4 gruppi sperimentali, è stata somministrata *per os* una soluzione da 4 mL con il probiotico definito o con acqua sterile attraverso apposite pistole dosatrici. Rispettivamente, il gruppo A ha ricevuto una dose di 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM-1079 (Lallemand Animal Nutrition); il gruppo B ha ricevuto una dose di 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200 (Chr Hansen); il gruppo A+B ha ricevuto un mix dei due probiotici 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* cncm-1079 ed 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200; mentre al gruppo CO è stato inoculata pari quantità di acqua sterile.

Le soluzioni probiotiche sono state preparate miscelando la polvere dei relativi probiotici in acqua sterile immediatamente prima della loro somministrazione.

Al momento della somministrazione del trattamento, i suinetti sono stati pesati individualmente (T₀) ed è stata loro applicata una marca auricolare numerata per il riconoscimento individuale. Il peso individuale dei suinetti è stato in seguito rilevato a 7 ± 2 giorni (T₁) e prima dello svezzamento a 18 ± 2 giorni (T₂).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Da un sotto-campione di 6 scrofe/gruppo, contestualmente al rilievo ponderale T1 e T2, è stato prelevato un tampone rettale da 3 suinetti/nidiata e dalle rispettive madri, per verificare se l'inoculo precoce di battei ha modificato il profilo microbico intestinale dei lattonzoli durante tutta la fase di lattazione.

La salute dei suinetti è stata monitorata durante tutto il periodo sottoscrofa, gli eventuali scostamenti dalla norma sono stati registrati, così come le terapie antibiotiche e le mortalità e esclusione dei soggetti dalla prova. Tutti i soggetti sono stati svezzati a 25 ± 2 giorni.

La prova avrebbe dovuto protrarsi fino alla seconda settimana post-svezzamento, ma a causa di una situazione sanitaria non ottimale della banda oggetto dello studio, al fine di limitare il possibile stress ai suinetti, il committente ha deciso di interrompere i rilevamenti.

Analisi microbiota fecale

Dai campioni fecali raccolti dai suinetti e dalle scrofe è stato estratto il DNA batterico totale utilizzando il kit di estrazione FastDNATM Spin Kit for Soil (MP Biomedicals Europe, LLC). La quantità e qualità del DNA è stata valutata attraverso la quantificazione al nanodrop e la semina su gel di agarosio. Il DNA è stato in seguito utilizzato per effettuare la caratterizzazione del profilo microbico attraverso sequenziando le regioni V3-V4 del gene 16S rRNA su piattaforma Illumina miseq.

Analisi statistiche

L'effetto dei probiotici nei quattro gruppi è stato considerato utilizzando un modello fattoriale con un disegno 2x2. Per l'effetto positivo del probiotico *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* CNCM-1079 (Prob. A) sono stati considerati i due gruppi A e A+B, mentre per l'effetto positivo del probiotico *Enterococcus faecium* lactiferm WS200 (Prob. B) sono stati considerati i due gruppi B e A+B. Il gruppo di controllo CO era quindi negativo per i due probiotici.

I dati relativi la mortalità e l'esclusione dei suinetti dalla prova per ridotte performance sono stati analizzati utilizzando la procedura GENMOD (SAS software versione 9.3), fittando i dati con una distribuzione binomiale logaritmica ed includendo come fattori Prob A, Prob B e loro interazione, la classe di parto della scrofa (1-2; 3-4-5; ≥ 6) e come covariate il peso iniziale medio del suinetto nella nidiata, e la numerosità della nidiata. La nidiata è stata utilizzata come unità sperimentale.

I dati relativi ai pesi dei suinetti e al loro incremento ponderale sono stati analizzati utilizzando un modello lineare ANOVA utilizzando come fattori: Prob A, Prob B e loro interazione, la classe di parto della scrofa (1-2; 3-4-5; ≥ 6), la nidiata, il sesso del suinetto (femmina, maschio castrato) e come covariate il peso iniziale medio del suinetto nella nidiata, e la numerosità della nidiata. Sesso e numerosità della nidiata sono in seguito stati rimossi dal modello in quanto non significativi. L'effetto del trattamento con i probiotici rispetto al gruppo di controllo è infine stato valutando eseguendo i seguenti contrasti: A vs CO, B vs CO, A+B vs CO.

I risultati sono stati considerati significativi se risultati con P-value < 0.05.

Risultati

Trattamenti sanitari e mortalità

I soggetti non hanno subito nessun trattamento antibiotico durante il periodo pre-svezzamento. In fase post-svezzamento i soggetti hanno presentato una forte diarrea che ha comportato l'utilizzo di antimicrobici e la cancellazione del rilevamento post-svezzamento inizialmente pianificato.

In totale 88 suinetti sono stati esclusi o deceduti prima del termine della prova. In **Tabella 2** sono riportate le medie delle percentuali di soggetti esclusi e deceduti per gruppo nei tre diversi periodi: T0-T1, T1-T2, T0-T2 e le significatività dei fattori inclusi nel modello statistico.

Non sono stati evidenziati effetti significativi della somministrazione di probiotici per quanto riguarda la percentuale di mortalità ed esclusione nel periodo T0-T1. Mentre per quanto riguarda il periodo compreso tra T1-T2 è stata evidenziata una tendenza nell'interazione tra i due probiotici (P-value = 0.059). In particolare, l'impiego di Prob A (gruppo A) ha tendenzialmente ridotto la percentuale di mortalità e esclusione di suinetti rispetto al controllo (CO: 3.93; A: 1.44; P-value= 0.08). Considerando l'intero periodo di prova (T0-T2) non è stato evidenziato un effetto significativo della somministrazione dei probiotici (**Tabella 2**).

Il peso medio iniziale della nidiata ha influenzato negativamente la percentuale di mortalità ed l'esclusione dei soggetti nei periodi T0-T1 (coefficiente -0.005; P-value < 0.001), T1-T2 (coefficiente -0.003; P-value = 0.008) e T0-T2 (coefficiente -0.005; P-value < 0.001). Tale risultato conferma quanto riportato nel progetto europeo PROHEALTH e sottolinea l'importanza del peso del suinetto alla nascita per la sua sopravvivenza e robustezza nei periodi successivi (Yuang et al., 2015).

Performance di accrescimento

In **Tabella 3** sono riportati i risultati dell'effetto della somministrazione *per os* di probiotici sul peso e le performance di accrescimento dei suinetti nella fase pre-svezzamento.

Il peso iniziale dei suinetti T0 non è risultato differente tra i gruppi, confermando che i gruppi erano opportunamente bilanciati. Non sono state evidenziate differenze significative per l'effetto dei due probiotici nel rilevamento effettuato al T1; mentre nel rilevamento effettuato al T2 si è osservato un effetto significativo sia per il Prob A (coefficiente 381.1; P-value < 0.001) che per il Prob B (coefficiente 447.9; P-value < 0.0001). E' inoltre risultata significativa la loro interazione (coefficiente -692.1; P-value < 0.0001); il coefficiente negativo denota un peggioramento del valore nel gruppo A+B (5106 g) rispetto ai gruppo dove è stato somministrato il singolo Prob A (5350 g) o il singolo Prob B (5417 g) (**Tabella 3**). Considerando i singoli contatti statistici effettuati verso il gruppo di controllo, è risultato un miglioramento significativo per il peso al T2 nei gruppi A e B (CO: 4970 g vs A: 5350 g; P-value = 0.004; CO: 4970 g vs B: 5417 g; P-value < 0.0005); mentre non sono state osservate differenze per i pesi rilevati al T1 dei probiotici verso il controllo.

Per l'incremento ponderale giornaliero (IPG) nei diversi tempi, non si è osservato alcun effetto dei probiotici per il periodo T0-T1.

Il Prob A ha migliorato l'IPG nei periodi T1-T2 (coefficiente 33.35; P-value <0.0001) e T0-T2 (coefficiente xxx; P-value <0.0007). Infatti i contrasti ortogonali hanno mostrato un miglioramento dell'IPG nel gruppo A rispetto al gruppo di CO nei periodi T1-T2 (CO: 212 g/giorno vs A: 246 g/giorno; P-value <0.0001) e T0-T2 (CO: 204 g/giorno vs A: 225 g/giorno; P-value = 0.001).

Si è osservato un effetto positivo del Prob B nei periodi T1-T2 (coefficiente 38.30; P-value <0.0001) e T0-T2 (coefficiente 13.249; P-value = 0.030). I contrasti ortogonali hanno mostrato un miglioramento dell'IPG nel gruppo B rispetto al gruppo di CO nei periodi T1-T2 (CO: 212 g/giorno vs B: 251 g/giorno; P-value <0.0001) e T0-T2 (CO: 204 g/giorno vs B: 218 g/giorno; P-value <0.05).

L'interazione tra i due probiotici è risultata significativa per l'IPG calcolato nei periodi T1-T2 (coefficiente -63.297; P-value < 0.0001) e T0-T2 (coefficiente -27.57; P-value = 0.001); il coefficiente negativo denota un peggioramento dei parametri in seguito all'impiego del mix di probiotici rispetto al loro impiego singolo, tuttavia non sono risultati effetti significativi nel gruppo A+B rispetto al gruppo di controllo (**Tabella 3**).

L'IPG è inoltre risultato influenzato dalla categoria di parto della scrofa (T0-T1 e T0-T2: P-value <0.0001), così come dal peso medio iniziale della nidiata (T0-T1: coefficiente 0.092, P-value <0.0001; T1-T2: coefficiente 0.064, P-value <0.0001; T0-T2: coefficiente 0.066, P-value <0.0001), e dalla numerosità della nidiata nel periodo T0-T1 (coefficiente -8.544, P-value= 0.0008). Infine l'effetto della nidiata (scrofa) è risultato significativo per l'IPG calcolato nel periodo T0-T1 (P-value= 0.001) e T1-T2 (P-value= 0.03).

Nel complesso la somministrazione di probiotici *per os* a 24-48 ore dalla nascita ha portato a un miglioramento dei parametri di accrescimento dei suinetti sia nella prima settimana di vita che al termine del periodo di allattamento.

Il Prob A, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, ha mostrato un miglioramento delle performance produttive nella seconda fase del periodo di allattamento ed una tendenza a ridurre la mortalità e l'esclusione dei suinetti dalla prova nel periodo compreso tra la prima settimana al ventesimo giorno di vita. Non vi sono molti studi che abbiano verificato l'effetto della somministrazione di *Saccharomyces cerevisiae*, nel periodo neonatale; lo studio effettuato da Hancox e co-autori (2015), nel quale il probiotico è stato somministrato in una singola dose di 3.3×10^9 UFC, in accordo con la presente prova, non ha mostrato differenze significative nell'IPG dei suinetti durante la prima settimana di vita, ma ha evidenziato una riduzione di diarrea. Mentre lo studio presentato da Kiros et al (2019), in cui il probiotico è stato somministrato ogni due giorni dalla nascita allo svezzamento nelle due dosi (5×10^9 UFC) o (2.5×10^{10} UFC) ha evidenziato un significativo miglioramento dell'ipg pre-svezzamento (giorno 0 a giorno 28 di età) dei suinetti.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

I risultati per il miglioramento delle performance ottenuti nella presente prova per il Prob B, *Enterococcus faecium lactiferm*, sono in linea con quanto riportato precedentemente da diversi autori (Wang et al., 2016; Zeyner e Boldt 2006), sebbene si trattasse di somministrazioni con ceppi e dosi di probiotico *Enterococcus faecium* differenti. E inoltre rilevante sottolineare che negli studi di Wang (2016) e Zeyner e Boldt (2006) la somministrazione di probiotico è stata fornita a dosi inferiori (6×10^8 UFC/mL e 1.26×10^9 CFU/mL, rispettivamente) rispetto a quella utilizzata nel presente studio ma per periodi prolungati (al 1°, 3° e 5° giorno e dal 4° al 27° giorno, rispettivamente). La prova effettuata dimostra che anche una singola dose di *Enterococcus faecium lactiferm* è in grado di promuovere miglioramenti significativi.

La somministrazione sinergica di entrambi i probiotici non ha mostrato degli effetti positivi. Sebbene si possa pensare che la combinazione di probiotici possa avere potenzialmente una maggiore efficacia, in quanto può integrare gli effetti dei diversi ceppi individuali, non sempre gli effetti positivi attesi si sono manifestati ed in alcuni casi, come nel presente studio, hanno invece portato ad un peggioramento dell'accrescimento dei suinetti (Chapman et al., 2011). Tale risultato può essere dovuto al fatto che la combinazione di ceppi di generi diversi può portare a una competizione tra loro per i nutrienti o per i siti di legame (Chapman et al., 2011).

Infine rimangono da approfondire i meccanismi biologici attraverso i quali la somministrazione dei probiotici ha permesso un miglioramento delle performance di accrescimento e della sopravvivenza dei suinetti; l'analisi delle differenze nel profilo microbico fecale dei suinetti nei diversi gruppi, aiuterà a definire se l'effetto dei probiotici è da imputare a un miglioramento dell'eubiosi intestinale.

Tabella 2. Effetto della somministrazione per os di probiotici in suinetti neonati sulla percentuale di mortalità ed esclusioni dei suinetti dalla prova.

Mortalità ed esclusione %	Gruppo ¹		P value				Numerosità nidiate			
	A	B	Prob A	Prob B	Classe Op	peso medio iniziale				
CO	A	B	A + B	Se	Prob A	Prob B	x Prob B	0.70		
T0-T1	4.61	4.10	3.66	0.34	0.95	0.77	0.80	0.45	<0.001	0.70
T1-T2	3.93	1.44 ⁺	3.48	0.43	0.48	0.67	0.06	0.13	0.008	0.75
T0-T2	7.53	4.60	7.29	0.29	0.43	0.16	0.13	0.36	<0.001	0.73

¹ CO=4 ml di acqua sterile; A= 4 ml di 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM-1079 (Lallemand Animal Nutrition); B = 4 ml di 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200 (Chr Hansen); AB = 4 ml di mix dei due probiotici 1×10^{10} UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* cncm-1079 ed 1×10^{10} UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200

⁺ P-value < 0.1; I contrasti sono stati effettuati verso il trattamento controllo

Tabella 3. Effetto della somministrazione *per os* di probiotici sul peso e le performance di accrescimento dei suinetti nella fase pre-svezamento.

	Gruppo ¹																				
	CO		A		B		A + B		Se		Prob		Prob A x		Classe Op		peso		Numerosità		
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	Prob A	Prob B	Classe Op	iniziale	medio	nidiata	Nidiata		
Peso, g																					
T0	1457	1447	1444	1444	1443	1443	13.11	0.594	0.531	0.740	0.812	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.754	0.744	0.744	
T1	2619	2596	2646	2646	2643	2643	33.48	0.639	0.568	0.769	0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.763	0.204	0.204	
T2	4970	5350	5417	5417	5106	5106	71.13	<0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.879	0.991	0.991	
Incremento ponderale giornaliero, g/giorno																					
T0-T1	186	183	184	184	193	193	4.32	0.584	0.759	0.167	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.001	
T1-T2	212	246	251	251	221	221	4.60	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.086	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.459	0.036	0.036	
T0-T2	204	225	218	218	211	211	4.24	0.0007	0.030	0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.057	0.729	0.729	

¹ CO=4 ml di acqua sterile; A= 4 ml di 1x10¹⁰ UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM-1079 (Lallemand Animal Nutrition); B = 4 ml di 1x10¹⁰ UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200 (Chr Hansen); AB = 4 ml di mix dei due probiotici 1x10¹⁰ UFC/capo di *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* cncm-1079 ed 1x10¹⁰ UFC/capo di *Enterococcus faecium lactiferm* WS200.

* = P-value < 0.05; ** = P-value < 0.005; *** = P-value < 0.0001. I contratti sono stati effettuati verso il trattamento controllo

Riferimenti Bibliografici

Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: Are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr.* 2011;50:1–17.

Colditz IG and Hine BC. Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare. *Animal Production Science*, 2016, 1961–1983.

Hancox LR, Le Bon M, Richards PJ, Guillou D, Dodd CER, Mellits KH. Effect of a single dose of *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* on the occurrence of porcine neonatal diarrhoea. *Animal.* 2015;9:1756–9.

Heuß EM, Pröll-Cornelissen MJ, Neuhoß C, Tholen E, Große-Brinkhaus C. Invited review : Piglet survival : benefits of the immunocompetence. *Animal.* 2019;13:2114–24.

Kiros TG, Luise D, Derakhshani H, Petri R, Trevisi P, D’Inca R, et al. Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on the performance and cecum microbial profile of suckling piglets. *PLoS One.* 2019;14:e0219557. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0219557>

PROHEATH european project <https://www.fp7-prohealth.eu/>

Revilla M, Friggens NC, Broudiscou LP, Lemonnier G, Blanc F, Ravon L. Towards the quantitative characterisation of piglets’ robustness to weaning : a modelling approach. *Animal.* 2019;12:2536–46

Taras D, Vahjen W, Macha M, Simon O. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. *J Anim Sci.* 2006;84:608–17.

Stokes CR. The development and role of microbial-host interactions in gut mucosal immune development. *Journal of Animal Science and Biotechnology;* 2017;8:12.

Wang Y, Gong L, Wu Y ping, Cui Z wen, Wang Y qiang, Huang Y, et al. Oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG to newborn piglets augments gut barrier function in pre-weaning piglets. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2019;20:180–92.

Wang YB, Du W, Fu AK, Zhang XP, Huang Y, Lee KH, et al. Intestinal microbiota and oral administration of *Enterococcus faecium* associated with the growth performance of new-born piglets. *Benef Microbes.* 2016;7:529–38.

Yuan TL, Zhu YH, Shi M, et al. Within-litter variation in birth weight: impact of nutritional status in the sow. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2015;16(6):417–435. doi:10.1631/jzus.B1500010



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

*Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.*

Zeyner A, Boldt E. Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2006;90:25–31.

REPORT FINALE

PSR FILIERA AGRICOLA TRE VALLI

AZIONE 3.4

Strategie alimentari volte a ridurre l'insorgenza della sindrome diarroica post-svezzamento nel suino

Prof. Paolo Trevisi e Prof Paolo Bosi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari - Università di Bologna

Introduzione

Lo svezzamento rimane una fase critica nella produzione suinicola ed è correlato alla diarrea post-svezzamento (PWD) che causa disturbi del tratto intestinale (disbiosi intestinale) ed aumenta la morbilità e mortalità in questa fase di produzione.

Gli antibiotici sono stati ampiamente utilizzati in passato per ridurre il rischio associato a PWD. In alternativa al trattamento antibiotico, l'impiego di Zinco Ossido (ZnO) (2500-3000 ppm) rappresenta un'ulteriore strategia per controllare la PWD. Tuttavia, sia l'impiego di antibiotici che quello di ZnO sta subendo forti restrizioni che diventeranno sempre più stringenti nel prossimo futuro. La messa a punto di strategie produttive in grado di ridurre la dipendenza della produzione suinicola da queste sostanze è un obiettivo di medio periodo per le aziende. Tra queste strategie, la definizione di opportune integrazioni della dieta con additivi zootecnici in grado di migliorare l'eubiosi intestinale del suino, offre buone prospettive di efficacia.

Pertanto, la probiosi rappresenta una strategia promettente per contrastare la PWD. I probiotici possono stimolare la maturazione intestinale del suinetto, modificare il profilo microbico intestinale, stabilizzandolo e promuovendo l'eubiosi intestinale (Roselli et al., 2018). Tuttavia, l'applicazione di strategie probiotiche in situazioni di campo non è ancora stata ampiamente valutata così come non sono del tutto studiati i tempi di somministrazione ed i dosaggi.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Obiettivo

L'obiettivo del presente studio è quindi valutare l'efficacia della somministrazione di un probiotico commerciale costituito da una miscela di *Bacillus (B.) subtilis* e *B. licheniformis* sullo stato di salute e le performance di crescita in suini allo svezzamento.

Materiali e Metodi

Lo studio, è stato condotto presso il Sito 2 dell'allevamento Fagnani Gianni Michele SS SA. La prova ha coinvolto in totale 3016 suinetti svezzati al giorno 23 ± 2 che sono stati allocati nell'allevamento in tre accasamenti consecutivi (**Tabella 1**).

Tabella 1. Accasamenti e gruppi sperimentali.

Accasamento	Data	n. Capi	Maschi	Fem	Peso medio iniziale	Dieta
1	18/10/18	1055	522	533	6640	CO
2	23/10/18	961	515	446	6460	PR
3	25/10/18	1000	495	505	6500	PR-CO

Fem= femmine. CO = gruppo controllo; PR = gruppo probiotico.

La prova è stata svolta in un unico ciclo a partire dal giorno (d) dello svezzamento (d0) fino al d54 post-svezzamento. Gli animali sono stati accasati in due capannoni, rispettivamente il capannone di controllo (CO) e il capannone trattato con probiotico (PR).

Il piano alimentare ha previsto l'impiego di tre diete (3 fasi), le cui composizioni sono riportate in **Tabella 2**.

I suini del gruppo PR sono stati alimentati con le stesse diete del gruppo CO additivate con un prodotto commerciale composto da una miscela di due probiotici, rispettivamente *B subtilis* + *B. licheniformis*. Il probiotico è stato aggiunto in dose decrescente nelle tre formulazioni impiegate durante la prova, come indicato in **Tabella 2**

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 2. Composizione delle diete somministrate ai suini durante il periodo di prova

Composizione	Dieta 1 d0-d14	Dieta 2 d15-d28	Dieta 3 d26-d54
<i>SS%</i>			
proteina grezza	16.8	16.8	16.6
grassi grezzi	5.8	5.2	5.2
fibra grezza	4.6	4.2	4.8
ceneri grezze	4	4	4
Calcio	0.4	0.4	0.42
Fosforo	0.4	0.4	0.42
Sodio	0.27	0.26	0.25
Metionina	0.42	0.39	0.46
Lisina	1.18	1.16	1.22
<i>Additivi per Kg</i>			
Vit A	16.000 UI	16.000 UI	11200 UI
Vit D3	2000 UI	2000 UI	1400 UI
Vit E	100 mg	100 mg	70 mg
Manganese	50 mg	50 mg	35 mg
Zinco	130 mg	130 mg	90 mg
Ferro	140 mg	140 mg	98 mg
Rame	130 mg	130 mg	90 mg
Iodio	3 mg	3 mg	2 mg
Selenio	300 mcg	300 mcg	210 mcg
L-Treonina	1600 mg	-	-
DL-metionina	1800 mg	-	-
6-fitasi	1000 U	1000 U	700 U
Endo-1,4-beta-glucanasi	400 U	400 TGU	280 TGU
Endo-1,4-beta-xylanasi	896 U	896 TXU	630 TXU
<i>Probiotico UFC/g*</i>			
<i>B. licheniformis/ B. subtilis 1/1</i>	3200000 UFC/g	2400000 UFC/g	16000000 UFC/g

*somministrazione prevista per il solo gruppo PR.

Un sottogruppo di suini afferente al **terzo accasamento** (884 soggetti) è stato oggetto di rilevamenti più dettagliati. I suinetti sono stati divisi in 2 gruppi (442 soggetti per gruppo): (i) Controllo (CO); (ii) Probiotico (PR). I suini assegnanti ad ogni dieta sono stati alloggiati in 7 box. Rispettivamente 3 box costituiti da soli maschi castrati e 3 box costituiti da sole femmine (62 suini per box), mentre nel settimo box sono stati alloggiati suinetti di entrambi i sessi (70 suinetti)

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
 FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

(Figura 1). Nei 7 box in prova, la dieta è stata somministrata manualmente, due volte al giorno, per tutta la durata della prova.

Per 3 dei 7 box inclusi nella prova (**194** suini per gruppo), rispettivamente 1 box di maschi castrati, 1 box di femmine ed 1 box misto per sesso, al d0 è stata applicata una marca auricolare numerata ad ogni soggetto (**Figura 1**).

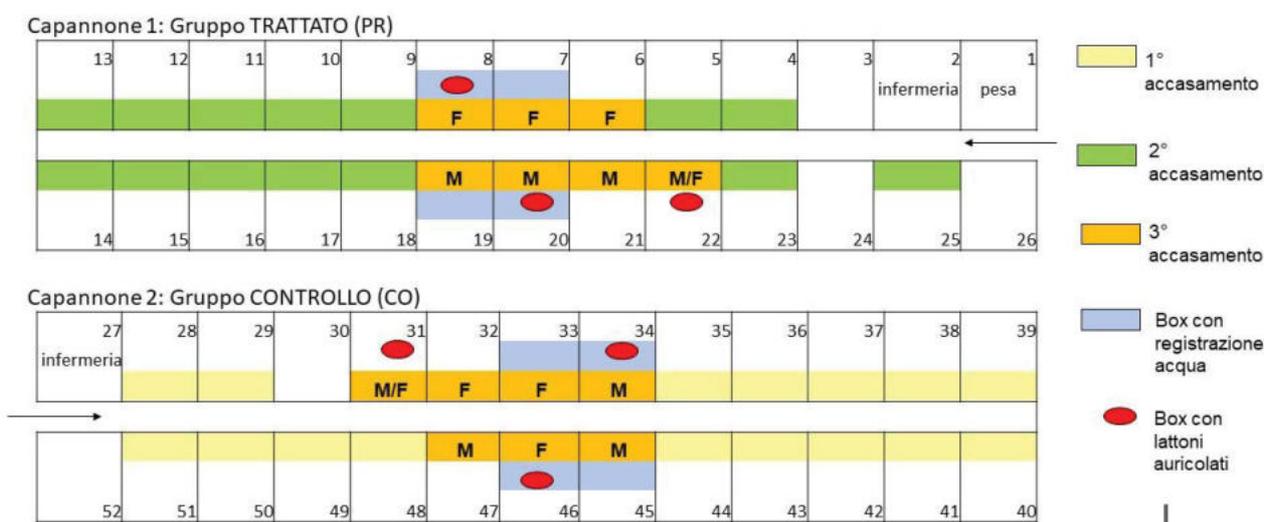


Figura 1. Rappresentazione della piantina di allevamento e della distribuzione dei box inclusi nella prova sperimentale.

Al termine della prova (d54) gli animali sono stati accasati in un unico sito d'ingrasso, mantenendo separati i gruppi CO e PR. Nel sito 3, i due gruppi saranno alimentati con lo stesso piano alimentare normalmente adottato per questa fase di allevamento.

Infine, gli animali sono stati macellati a 272 giorni (9 mesi) dall'inizio della prova, al macello sono stati rilevati i dati riguardo: peso della carcassa, resa percentuale dei vari tagli commerciali e percentuale di carne magra e di grasso della carcassa e dei vari tagli commerciali, dati ottenuti dallo strumento ImageMeater.

Misure e Campionamenti

Lo stato di salute, la mortalità ed i trattamenti antibiotici e sanitari dei suini presenti nei 7 box selezionati sono stati monitorati durante l'intera durata della prova.

Per i 3 box/dieta con i suini auricolati (194 soggetti/gruppo), è stato rilevato il peso individuale al d0 ed in seguito, ogni due settimane (d14, d28, d42 e d54). Per i restanti 4 box/dieta, è stato rilevato il peso di gruppo degli animali agli stessi intervalli di tempo.

Per i 7 box/dieta selezionati, è stato registrato giornalmente il peso del mangime somministrato. Inoltre il consumo giornaliero di acqua di abbeverata è stato registrato in 2 unità per gruppo composte da 2 box/dieta adiacenti (7/8 e 19/20 per il gruppo PR; 33/34 e 45/46 per il gruppo CO) come rappresentato in **Figura 1**.

Un campione di dieta CO e PR è stato prelevato ad ogni consegna di mangime presso l'allevamento e stoccato per una verifica successiva dell'effettiva dose di probiotico inclusa.

Analisi statistica

I consumi individuali di mangime ed acqua dei 7 box/dieta in prova sono stati calcolati stimando il consumo dei soggetti morti e dei soggetti scartati come segue:

Soggetto morto: il consumo è stato considerato nullo per i tre giorni precedenti la morte

Soggetto scartato: il consumo è stato considerato 50% del consumo medio del gruppo per i tre giorni precedenti la morte

Per ogni gruppo sperimentale, l'incremento ponderale giornaliero (IPG) ed il consumo alimentare giornaliero dei suini sono stati calcolati separatamente per i 3 box/dieta in cui il peso è stato rilevato individualmente e cumulativamente per i 7 box/dieta. Il consumo idrico giornaliero è stato calcolato su 2 coppie di box per dieta.

I dati di accrescimento e consumo alimentare sono stati analizzati utilizzando la procedura general linear model (GLM) nel software statistico SAS fittando i dati in un modello lineare ANOVA che comprendeva dieta (CO, PR) e sesso (femmina, maschio castrato) come fattori fissi. Dal momento che il peso iniziale dei suinetti auricolati (3 box/gruppo) era risultato differente, quest'ultimo è stato incluso nel modello statistico. Le differenze nel consumo idrico tra CO e PR sono state testate utilizzando il test T-student. La relazione tra consumi idrici e alimentari è stata valutata effettuando la correlazione di Pearson. I dati raccolti al macello riguardo il peso alla macellazione e percentuale di carne magra e di grasso della carcassa e dei vari tagli commerciali sono stati analizzando utilizzando il test T-student considerando il trattamento come fattore.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
 FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Risultati

Trattamenti sanitari

I suinetti sono entrati in prova il giorno 25/10/2018 I suini del gruppo CO sono stati trattati con Lincospectin dal 31/10/2018 al 5/11/2018 (7-12 giorni post-svezzamento). Il trattamento è stato somministrato impiegando un mangime medicato.

Per la manifestazione di segni clinici ascrivibile ad infezione da Streptococco i soggetti sono stati trattati con Doxipan dal d43 al d49 di prova per problematiche legate ad una forma influenzale. I trattamenti sono stati somministrati per mezzo di acqua di bevanda agli interi capannoni. Inoltre gli animali sono stati trattati dal d43 al d49 con Ivomec, trattamento antielmintico praticato routinariamente.

Dal d8 al d14 e dal d15 al d28 di prova, 141 suini del gruppo CO e 98 suini del gruppo PR sono stati trattati individualmente con Baytril (enrofloxacin). Successivamente sono stati trattati individualmente ulteriori 28 soggetti (periodo d35 – d42) e 3 soggetti (periodo d43 – d49) del gruppo PR con Forcyl (Marbofloxacin) (**Figura 2**).

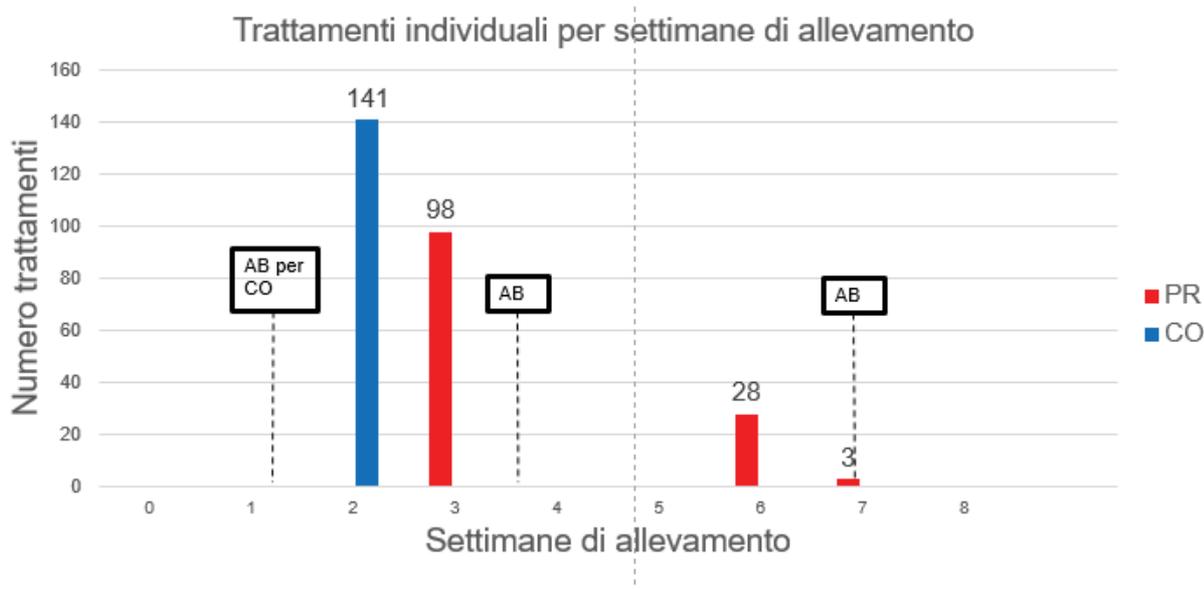


Figura 2. Trattamenti individuali e di massa effettuati nei suini durante la il periodo di prova. PR = gruppo probiotico; CO = gruppo controllo. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=trattamento di massa su entrambi i gruppi in prova.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Numero di animali considerati fuori prova

Complessivamente, 21 suini, rispettivamente 11 del gruppo PR e 10 del gruppo CO, sono stati spostati dai rispettivi box in infermeria. Il maggior numero di suini spostati è stato registrato durante il periodo dal d8 al d14 di prova; rispettivamente 7 suini del gruppo PR e 5 suini del gruppo CO (**Tabella 2; Figura 3**).

Tabella 2. Numero di suini spostati in infermeria per ogni settimana di prova ed esclusi dalla stessa.

Data	Settimana	Giorni di prova	PR	CO
01/11/2018	1	7		
08/11/2018	2	14	7	5
15/11/2018	3	21		1
22/11/2018	4	28	3	
29/11/2018	5	35		
06/12/2018	6	42	1	3
13/12/2018	7	49		1
18/12/2018	8	54		
TOTALE			11	10

PR = probiotico; CO = Controllo. Dati riferiti ai 7 box/dieta in prova.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

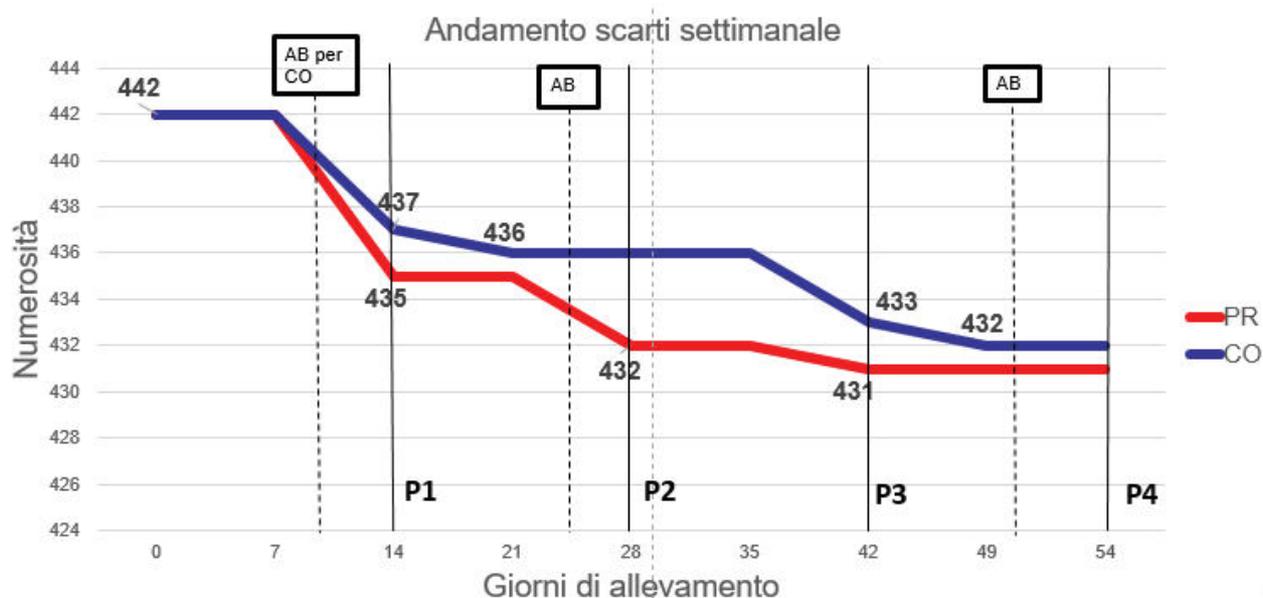


Figura 3. Consistenza dei gruppi suini durante la prova. I numeri riportano la numerosità dei gruppi sottratta dei soggetti spostati in infermeria. PR = gruppo probiotico; CO = gruppo controllo. Dati riferiti a 7 box/dieta in prova. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB = trattamento di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti.

Mortalità

Un totale di 13 suinetti sono deceduti prima del termine della prova, rispettivamente 6 suinetti per il gruppo CO e 7 suinetti per il gruppo PR (**Tabella 3; Figura 4**).

Per 2 suinetti deceduti durante il periodo dal d35 al d42, le analisi necroscopiche hanno rivelato la presenza di *Escherichia coli*.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 3. Numero suinetti deceduti durante la prova.

Data	Settimana	Giorni di prova	PR	CO
01/11/2018	1	7	0	1
08/11/2018	2	14	1	1
15/11/2018	3	21	0	0
22/11/2018	4	28	0	1
29/11/2018	5	35	1	1
06/12/2018	6	42	2	2
13/12/2018	7	49	2	0
18/12/2018	8	54	1	0
Totale			7	6

PR = gruppo probiotico; CO = gruppo controllo. Dati riferiti a 7 box/dieta in prova.

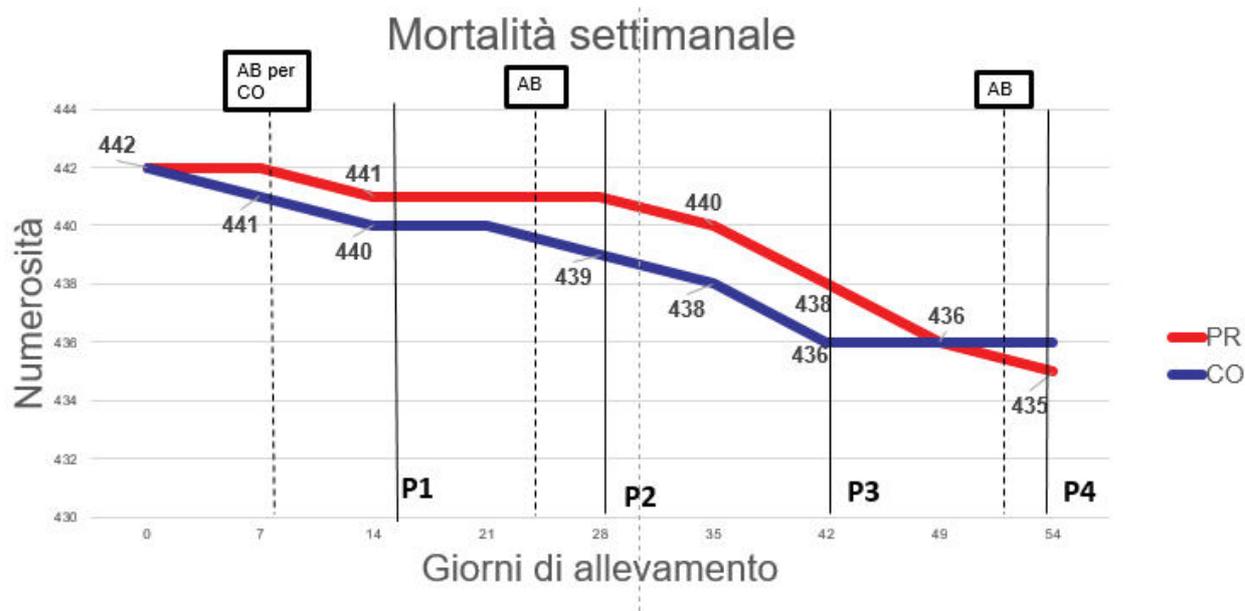


Figura 4. Mortalità settimanale dei suinetti per gruppo. PR = gruppo probiotico; CO = gruppo controllo. Dati riferiti a 7 box/dieta in prova. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB = trattamento di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti.

Performance

In **Tabella 4** sono riportati i risultati relativi alle performance di crescita dei suini appartenenti ai 3 box per dieta pesati individualmente. Ad inizio prova ed ai tempi d14, d28, i suini del gruppo PR hanno presentato un peso maggiore rispetto ai soggetti al gruppo CO ($P < 0.05$), mentre nessuna differenza di peso è stata rilevata al d42 di prova.

Come riportato nella sezione “Analisi statistica”, dal momento che il peso iniziale dei gruppi differiva già dall’inizio della prova, nel modello statistico il peso al d0 è stato inserito come covariata. Contrariamente a quanto riportato da Jørgensen et al. (2016), nel cui studio è stato utilizzato lo stesso mix di probiotici, nel nostro studio non sono state evidenziate differenze significative nei pesi dei suinetti alle pesate effettuate al d14 e d28 di prova; mentre al d42, il gruppo CO ha mostrato un peso vivo superiore rispetto al gruppo PR ($P = 0.03$).

Per quanto riguarda l’IPG, non sono state rilevate differenze significative tra i due gruppi durante il periodo di prova d0 – d14. Durante il periodo di prova d15 – d28, il gruppo PR ha presentato un IPG tendenzialmente superiore rispetto a quello del gruppo CO ($P = 0.08$), mentre durante il periodo d29 – d42 il gruppo PR ha presentato un IPG inferiore rispetto al gruppo CO ($P = 0.0001$).

In **Tabella 5** sono riportati i risultati relativi alle performance produttive dei suini appartenenti ai 7 box/dieta. Non sono state rilevate differenze significative nel peso vivo e nel consumo giornaliero di alimento durante tutto il periodo di prova. Non sono state rilevate differenze significative per quanto riguarda l’IPG durante i periodi: d0 – d14 e d15 – d28. Durante il periodo d29 – d42, il gruppo CO ha avuto un IPG migliore rispetto al gruppo PR ($P = 0.03$), mentre durante il periodo d43 – d54, il gruppo PR ha registrato un IPG migliore rispetto al gruppo CO ($P = 0.05$).

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 4. Effetto del trattamento sul peso vivo (medie dei valori individuali tal quale e dopo trattamento con covariata per il peso iniziale)

Parametro	CO	PR	Errore standard	P-value Dieta
Peso vivo, kg				
Iniziale	5.97	6.36	0.08	0.0007
d14	7.6	8.1	0.11	0.0023
d28	12.47	13.38	0.2	0.0019
d42	20.81	20.92	0.31	NS
Peso vivo, kg, con covariata				
d14	7.82	7.87	0.07	NS
d28	12.79	13.05	0.16	NS
d42	21.26	20.47	0.26	0.032
Incremento ponderale giornaliero, kg				
d0 – d14.	0.116	0.124	0.005	NS
d15 – d28.	0.348	0.377	0.008	0.008
d29 – d42	0.596	0.539	0.01	0.0001
d0 – d42	0.353	0.347	0.007	0.481

CO = controllo; PR = probiotico. Dati riferiti a 3 box per dieta. Il calcolo è stato svolto considerando solo i soggetti ancora in prova fino al d42 di prova. I consumi sono stati aggiustati per i soggetti morti, detraendo per ciascuno il consumo medio per i 3 ultimi giorni e per i soggetti scartati, detraendo per ciascuno metà del consumo medio per i 3 ultimi giorni. ¹Dopo 12 giorni anziché 14. I dati sono stati inoltre aggiustati per l'effetto del sesso.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 5. Effetto del trattamento sul peso vivo ed il consumo medio di mangime per i 7 box per dieta.

Parametro	CO	PR	Errore standard	P-value Dieta
Peso vivo, kg				
Iniziale	6.31	6.67	0.20	NS
d14	8.03	8.44	0.28	NS
d28	13.29	13.78	0.47	NS
d42	22.40	21.66	0.77	NS
d54 ¹	30.100	30.010	0.900	NS
Consumi individuali giornalieri, kg				
d0 – d14	0.155	0.165	0.009	NS
d15 – d28	0.530	0.540	0.020	NS
d29 – d42	0.956	1.065	0.084	NS
d0 – d42	0.547	0.590	0.032	NS
d43 – d54 ¹	1.141	1.052	0.037	NS
d0 – d54	0.679	0.693	0.038	NS
Incremento ponderale giornaliero, kg				
d0 – d14	0.123	0.126	0.008	NS
d15 – d28	0.376	0.381	0.015	NS
d29 – d42	0.651	0.563	0.026	0.03
d0 – d42	0.383	0.357	0.014	NS
d43 – d54 ¹	0.641	0.695	0.018	0.05
d0 – d54	0.441	0.432	0.014	NS

CO = gruppo di controllo; PR = gruppo probiotico. Dati riferiti a 7 box per dieta. Il calcolo è stato svolto considerando solo i soggetti ancora in prova fino al d42 di prova. I consumi sono stati aggiustati per i soggetti morti, detraendo per ciascuno il consumo medio per i 3 ultimi giorni e per i soggetti scartati, detraendo per ciascuno metà del consumo medio per i 3 ultimi giorni. I dati sono stati inoltre aggiustati per l'effetto del sesso. ¹Dopo 12 giorni anziché 14.

In **Tabella 6**, sono riportati i risultati relativi al consumo medio giornaliero di acqua per i gruppi CO e PR dei suini allevati negli 8 box con rilievo giornaliero d'acqua (2 coppie di box per dieta). Durante il periodo d0 – d14 di prova, il gruppo PR ha avuto un consumo di acqua tendenzialmente superiore rispetto al gruppo CO ($P < 0.10$). In seguito, non sono state rilevate differenze significative tra i gruppi.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Tabella 6. Effetto del trattamento sul il consumo medio di acqua.

Parametro	CO	PR	Errore standard	P-value
Consumi H2O individuali giornalieri, L				
d0 – d14	0.75	0.95	0.06	0.08
d15 – d28	1.92	2.38	0.17	NS
d29 – d42	2.86	3.13	0.2	NS
d43 – d54 ¹	2.9	3.24	0.3	NS
d0 – d54	2.08	2.4	0.16	NS

CO = gruppo di controllo; PR = gruppo probiotico. Dati riferiti a 2 coppie di box per gruppo. Il calcolo è stato svolto considerando solo i soggetti ancora in prova fino al d42 di prova. I consumi sono stati aggiustati per i soggetti morti, detraendo per ciascuno il consumo medio per i 3 ultimi giorni e per i soggetti scartati, detraendo per ciascuno metà del consumo medio per i 3 ultimi giorni. ¹Dopo 12 giorni anziché 14.

Nonostante non vi fossero differenze significative nel consumo di mangime tra i gruppi CO e PR, l'andamento del consumo alimentare (**Figura 5**) del consumo idrico (**Figura 6**) e del rapporto tra consumo idrico e consumo alimentare (H2O/cons) (**Figura 7**) sono stati plottati in corrispondenza con gli eventi di trattamento sanitario e dei giorni in cui sono state effettuate le pesate degli animali.

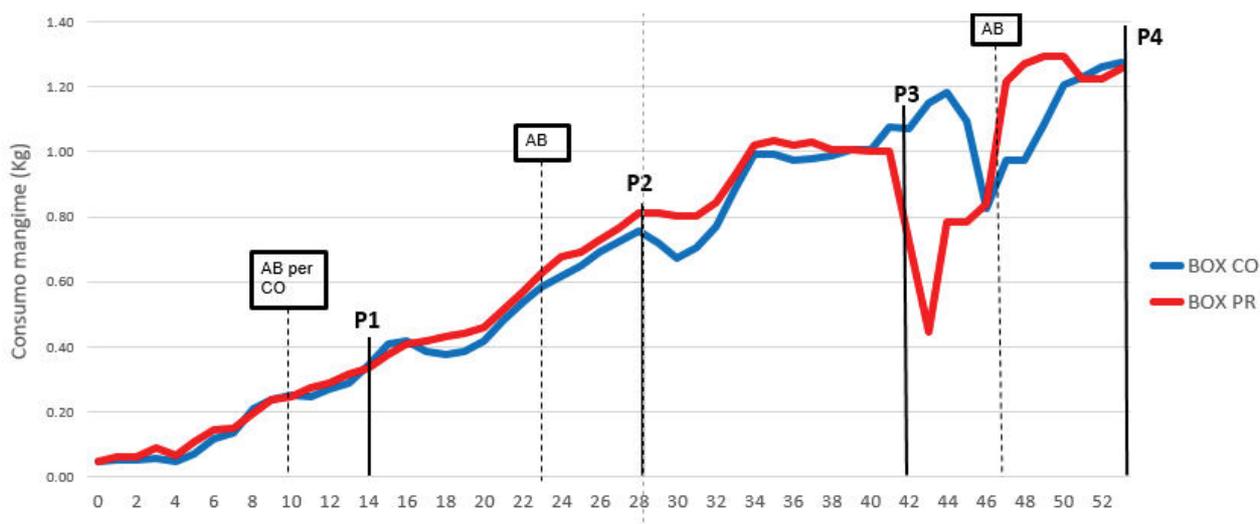


Figura 5. Andamento consumo giornaliero di alimento individuale dei 3 box/gruppo auricolati. PR = gruppo probiotico; CO = gruppo controllo. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=trattamento di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

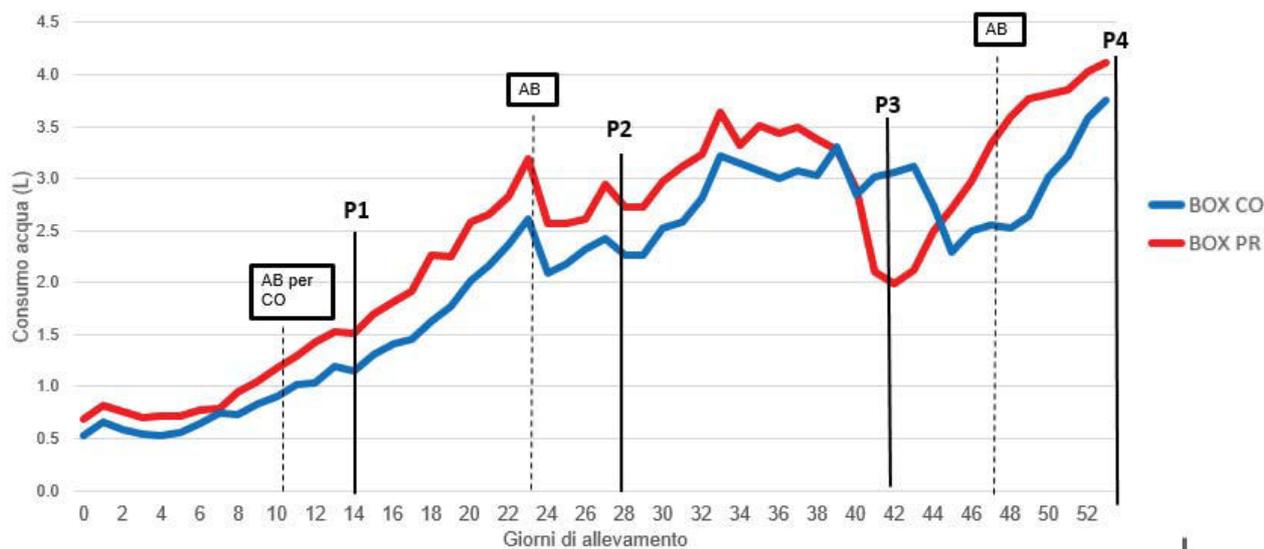


Figura 6. Andamento consumo idrico individuale dei 4 box/gruppo (2 coppie per gruppo). PR = gruppo probiotico CO = gruppo controllo. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=trattamento di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

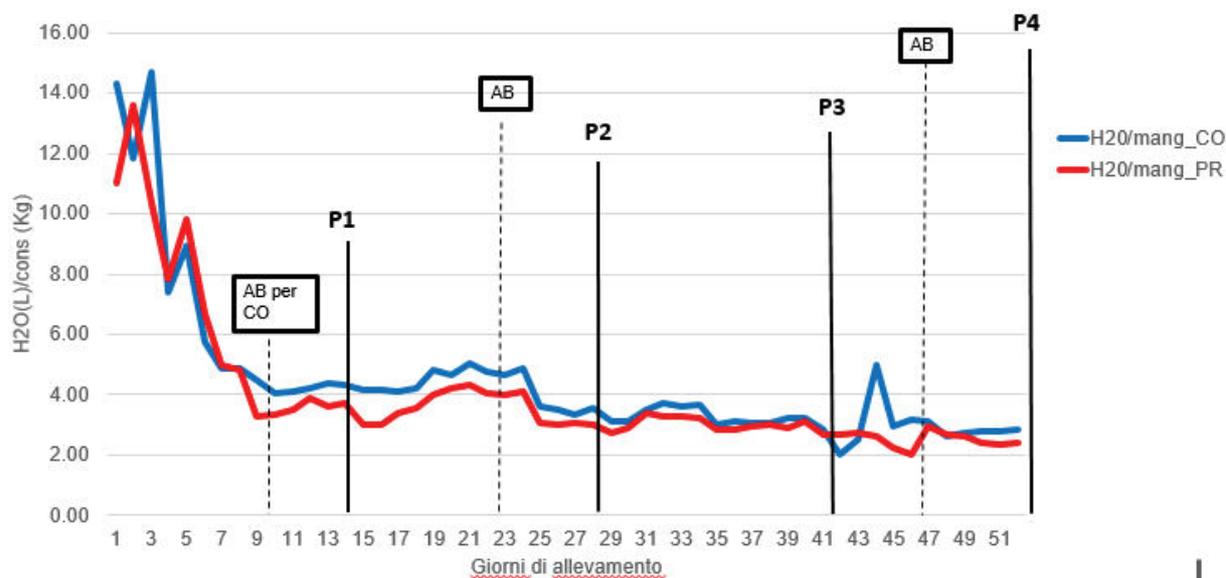


Figura 7. Andamento del rapporto tra consumo idrico/consumo alimentare complessivo dei box. Dati riferiti ai 4 box/dieta (2 coppie per gruppo). CO = gruppo controllo. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=treatmento di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti.

È stato registrato un calo repentino di consumo alimentare durante il periodo d42 – d49 di prova: il picco del calo è stato osservato rispettivamente al giorno 43 di prova per il gruppo PR e al giorno 46 per il gruppo CO (**Figura 5**). Successivamente infatti entrambi i gruppi sono stati trattati con Doxipan al giorno 47 di prova. Non è invece stato rilevato un calo nel consumo alimentare altrettanto evidente in corrispondenza con la somministrazione dell'antibiotico al d23.

Al contrario, osservando i dati relativi al consumo idrico (**Figura 6**), è possibile notare che in corrispondenza della somministrazione di antibiotico al d23 è stata registrata un'alterazione del consumo idrico. Inoltre, in linea con il consumo alimentare, anche il consumo idrico si è modificato nel periodo d42 – d49 di prova, dove, come illustrato in precedenza, al giorno 47 è stato effettuato il trattamento con Doxipan.

L'andamento del rapporto H2O/cons (**Figura 7**) rispecchia l'andamento dei consumi alimentari e idrici dei grafici precedenti. Come per il consumo alimentare, il rapporto H2O/cons evidenzia un'alterazione durante il periodo d42 – d49 di prova ma non evidenzia alterazioni in corrispondenza alla somministrazione di antibiotico al d23.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
 FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Per valutare la relazione tra il consumo alimentare e quello idrico, ne è stata calcolata la correlazione utilizzando i dati degli stessi box per i quali i dati giornalieri di acqua erano disponibili (**Figura 8**). In accordo con studi precedenti (Musial et al., 1999; Bigelow e Houpt, 1988) il consumo alimentare ed idrico hanno presentato una correlazione positiva pari a 0.95 per i box 7/8 e 33/34; 0.91 per i box 19/20 e 0.94 per i box 45/46.

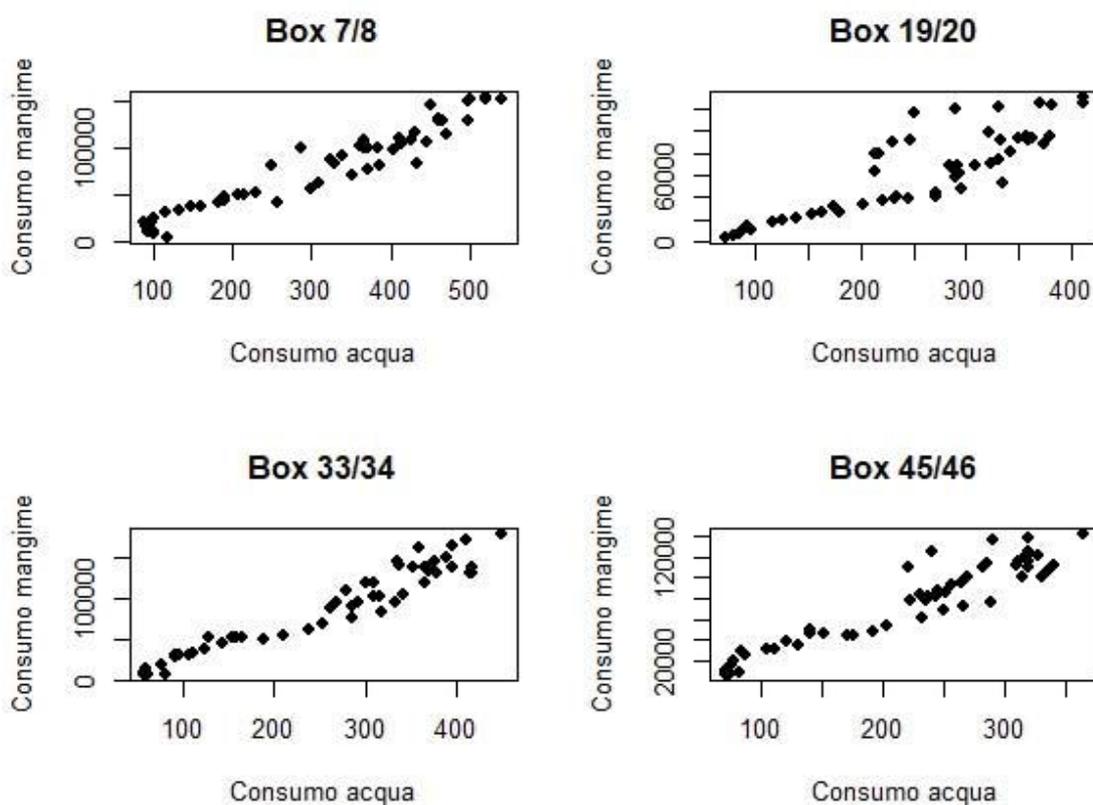


Figura 8. Scatter plot per i consumi di acqua e di alimento durante l'intera durata della prova. Dato aggregato di box.

In **Figura 9** sono riportate le relazioni tra il consumo alimentare ed il rapporto tra il consumo idrico e quello alimentare per i singoli box 7/8 e 19/20. Tali box sono stati scelti perché con correlazione differente. In generale l'andamento tra il consumo alimentare e il rapporto H₂O/cons è lineare. Al ridursi del consumo alimentare si è osservato l'incremento del rapporto H₂O/cons. Tuttavia, si è osservato che durante i primi giorni successivi all'accasamento dei suini, vi è uno squilibrio di tale linearità, determinato da un incremento del rapporto H₂O/cons derivante dal maggior consumo

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

idrico rispetto a quello alimentare. È noto che i suinetti necessitano di un maggior apporto d'acqua per kg di peso vivo rispetto agli animali adulti (Whittemore, 2000), tuttavia l'aumento del rapporto H₂O/cons è imputabile al maggior stress legato alla fase di trasporto dal sito 1 al sito 2, che può aver determinato una maggiore necessità di reidratazione dei suini (Gracia et al., 2015; Sutherland et al 2009).

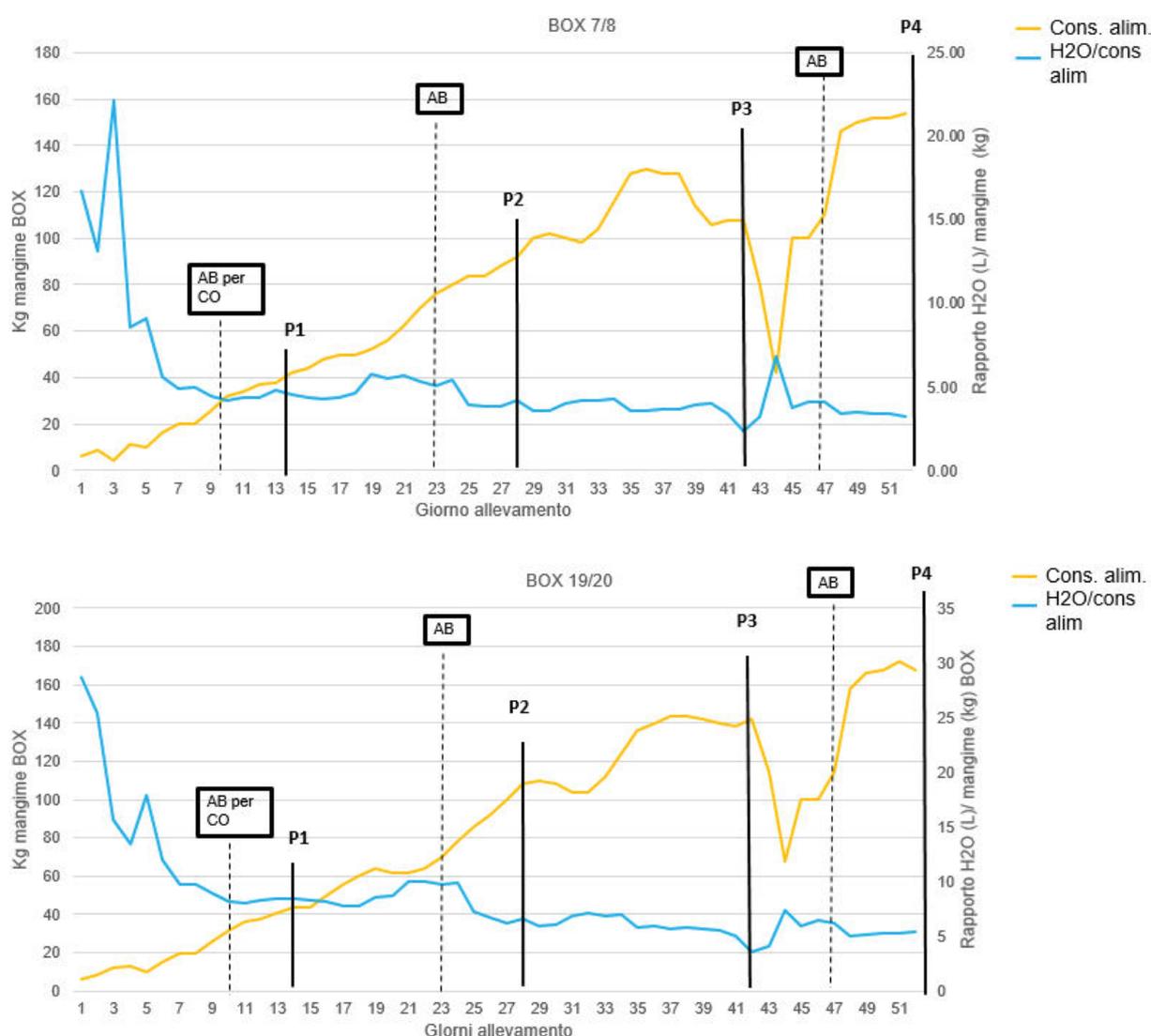


Figura 9. Andamento del consumo alimentare in relazione al rapporto consumo idrico (L)/ consumo alimentare (kg). I dati sono riferiti ai consumi complessivi dei box. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=treatment di massa su entrambi i gruppi in prova. P1; P2; P3; P4: giorni di prova in cui sono state effettuate le pesate dei soggetti.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. -
FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

Dati macello

In **Tabella 7** sono riportati i dati ottenuti al macello, gli animali sono stati divisi in due partite diverse tra controllo e trattato, di cui 158 suini per il controllo e 160 per il trattato. Non ci sono state differenze significative tra i due gruppi per nessuno dei parametri rilevati, le uniche differenze riguardano la lunghezza del muscolo *Gluteus medius* che risulta essere più lungo nel gruppo PR. Seppure in bibliografia esistano alcune evidenze sulla relazione tra il profilo microbico dei neonati le caratteristiche del tessuto muscolare in termini di dimensione delle fibre muscolari nel suino adulto, per questo studio risulta difficile asserire che la somministrazione di probiotici nella fase post-svezzamento possa avere influenzato le caratteristiche del muscolo con effetti fino alla macellazione.

Tabella 7. Caratteristiche della carcassa al macello

	CO	PR	SD	P-value
Peso.Carcassa a caldo, Kg	136.6	134.5	16.5	NS
Peso.Carcassa a freddo, Kg	133.9	131.8	16.1	NS
LMP= % carne magra	52.54	52.76	4.8	NS
Spessore medio carne (<i>Gluteus medius</i> mm)	98.25	97.94	11.78	NS
Lungh.Musc. <i>Gluteus medius</i> mm	117.3	124	23.62	0.03
Spessore medio lardo, mm	28.58	27.73	7.26	NS
Spessore.minimo mm	25.2	24.64	6.425	NS
Prosciutto, resa %	26.1	26	0.7	NS
Prosciutto % di massa magra	63.8	64	4.4	NS
Prosciutto % di massa grassa	25.8	25.5	5.1	NS
Lombo, resa %	16.5	16.6	16.5	NS
Lombo% carne magra	40.7	40.6	40.7	NS
Lombo% di grasso	30	29.3	29.6	NS
Spalla, resa %	13.5	13.6	0.5	NS
Spalla % di massa magra	72.1	71.8	2.4	NS
Spalla % di massa grassa	9.5	9.6	1.8	NS
Coppa, resa %	6.7	6.7	1.7	NS
Coppa % di massa magra	62	61.9	3.1	NS
Pancetta, resa %	12.2	12.2	1.3	NS
Pancetta% carne magra	42.6	42.8	6.8	NS
Pancetta% di grasso	54.8	54.4	12.8	NS
Filetto, resa %	1.5	1.6	0.6	NS
Lardo dorsale, resa %	8.2	7.9	2.8	NS
Guanciale, resa %	9.3	9.7	10.7	NS

Target temporale per il cambio di dieta

Generalmente il momento per il primo cambio dieta avviene, sulla base di dati precedenti, in corrispondenza del giorno in cui i suini hanno un consumo medio pro-capite di 350g di mangime/giorno. Tale consumo medio si raggiunge intorno al 14° giorno dall'accasamento. Tuttavia, tale consumo medio è stimato sulla base dei dati ottenuti cumulativamente dal capannone totale. Cosa accade agli animali che al giorno 14 non hanno ancora raggiunto un consumo medio di 350 g/giorno?

A tal fine, i box sono stati classificati in tre categorie per classe di ingestione (< 350g/giorno; 350g/giorno e > 350g/giorno) al d14, come riportato in **Figura 10**. In **Figura 11** sono riportati i consumi alimentari medi pro capite durante il periodo d14-d28 di prova per le tre classi generate. La differenza di consumo alimentare tra le tre classi si è presentata a partire dai giorni 9/10 di prova; giorni che coincidono con l'iniziale manifestazione di malessere dei suinetti che ha portato alla somministrazione di antibiotico nel gruppo Controllo al d10. Tuttavia, dal momento che le tre classi di ingestione includono soggetti di entrambe le diete (necessario per avere sufficiente rappresentatività in ogni classe), non è possibile associare la differenziazione in consumo alimentare delle tre classi con la salute dei suini. Considerando il periodo dal d14 (giorno del cambio dieta)-d28 di prova, l'andamento del consumo medio di alimento giornaliero è risultato omogeneo tra le tre classi. Analizzando statisticamente i consumi alimentari medi ad intervalli bisettimanali non sono state osservate differenze tra le categorie nel consumo alimentare durante tutta la durata della prova.

In **Figura 12** sono riportati i pesi individuali medi ottenuti durante la prova delle tre classi di consumo. Non sono state osservate differenze significative per i pesi individuali medi dei suini nelle 3 classi di consumo. Tuttavia è possibile notare che alla classe di ingestione <350g/giorno corrispondono i suini più leggeri, mentre a classe di ingestione >350g/giorno corrispondono suini con un peso maggiore.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

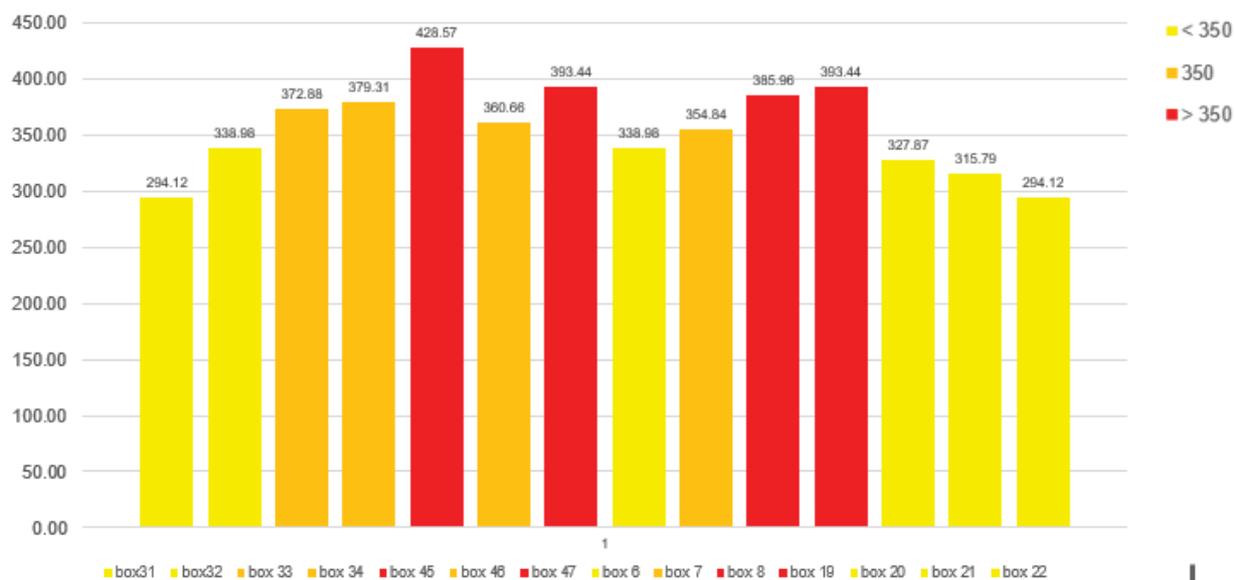


Figura 10. Divisione dei box per categoria media di consumo giornaliero.

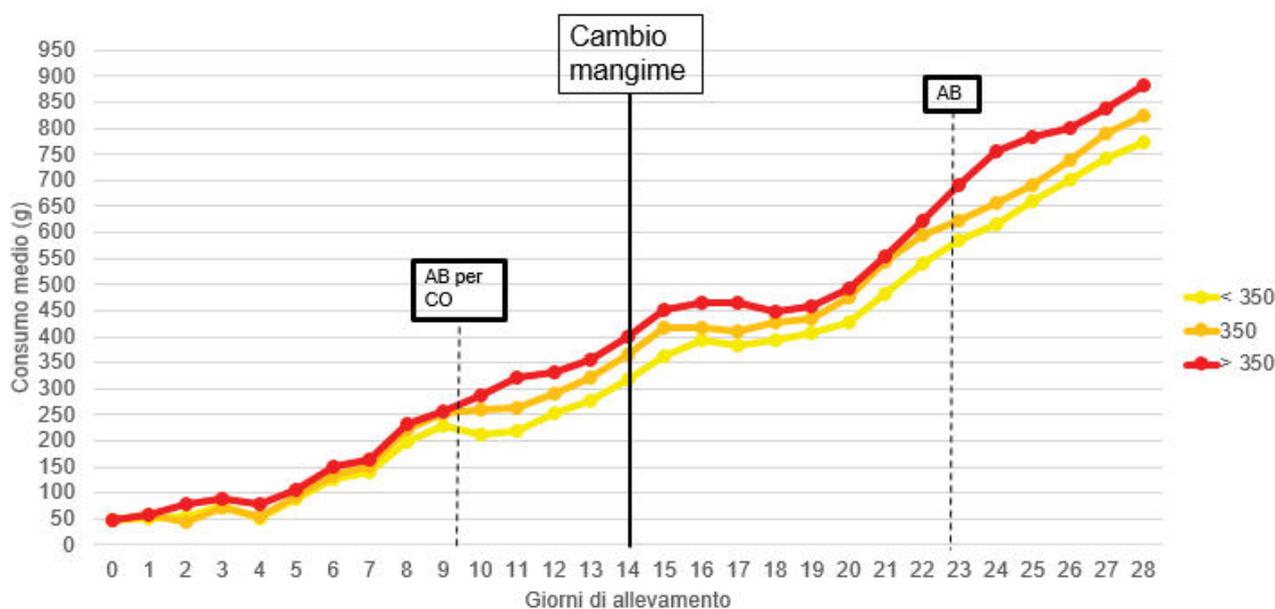


Figura 11. Consumo alimentare medio nelle tre diverse classi. AB=treatmento di massa su entrambi i gruppi in prova. AB per CO = trattamento di massa per il gruppo Controllo. AB=treatmento di massa su entrambi i gruppi in prova.

Progetto Filiera F61 – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01.

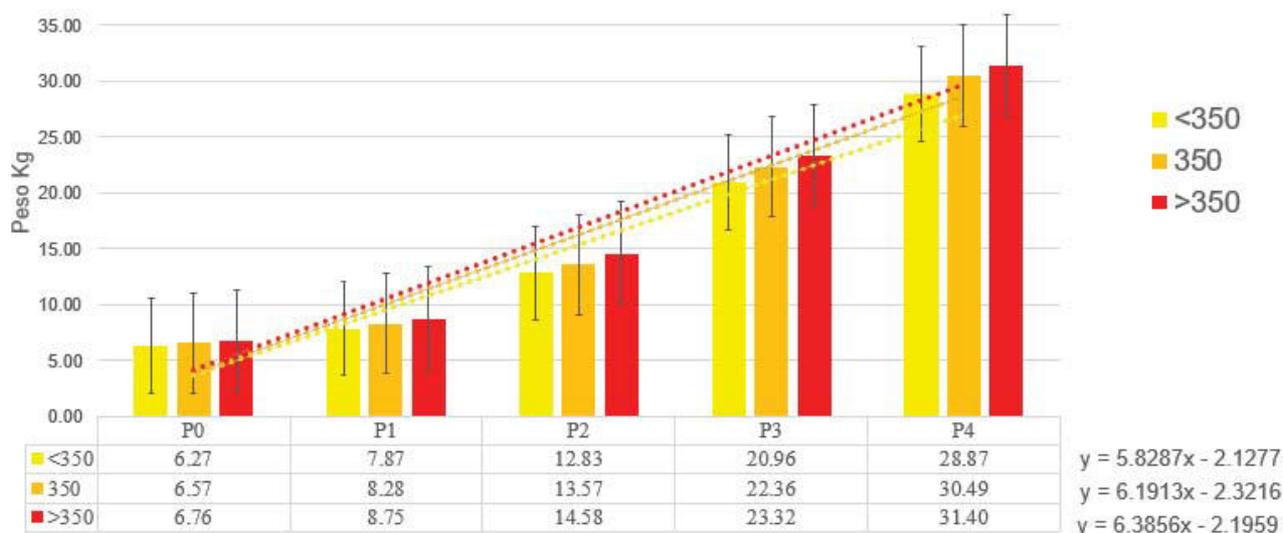


Figura 12. Peso individuale medio nelle tre diverse classi di consumo. P0=peso al d0; P1=peso al d14; P2=peso al d28; P3=peso al d42; P4= peso al d52

Analizzando i dati relativi all' IPG bisettimanale dei suini, si è osservato che i suinetti afferenti alla classe di consumo >350/g hanno presentato un IPG migliore (0.41 g/giorno) rispetto ai suinetti afferenti alla classe di consumo < 350/g (0.36g/giorno) nel periodo d14-d28 ($P < 0.05$). Durante i periodi successivi (d29-d42 e d43-d54) non sono state riscontrate differenze nell'IPG tra le classi di consumo. Pertanto i risultati suggeriscono che il cambio dieta al giorno 14 può influenzare le performance di accrescimento dei suinetti nel breve periodo senza avere ripercussioni significative al termine del periodo di allevamento (sito 2).

È tuttavia da sottolineare che i risultati potrebbero essere stati influenzati da altri fattori sperimentali quali la diversa dieta sperimentale e le diverse condizioni di salute dei suini nei due capannoni. L'ampliamento del set di dati da analizzare permetterebbe di giungere a conclusioni più robuste.

Conclusione

In conclusione, il trattamento con *B. subtilis* + *B. licheniformis* sembra avere consentito una riduzione dell'impiego di antibiotico nei suini, in particolare nelle prime settimane successive allo svezzamento, senza tuttavia migliorare le performance produttive. Resta però da confermare tale risultato in considerazione del maggiore peso dei soggetti del gruppo PR rispetto a quelli del

gruppo CO già al momento dell'accasamento. Infatti, il peso allo svezzamento è in parte correlato allo sviluppo fisiologico del suinetto.

Assumendo poi che il mix di probiotici utilizzato abbia avuto un effetto protettivo a dosaggi elevati, contribuendo a ridurre le problematiche sanitarie tipiche della fase di svezzamento, tale effetto potrebbe essersi ridotto al diminuire del dosaggio dell'additivo stesso.

Bibliografia

Bigelow J.A. and Houpt T.R. Feeding and drinking patterns in young pigs. *Physiology and Behaviour*, 1988, 43:99-109.

Gracia A., Pirner G., Picinin G., May M., Guay K., Backus B., Sutherland M., McGlone J. Effect of Provision of Feed and Water during Transport on the Welfare of Weaned Pigs. *Animals*, 2015, 5, 407-425; doi:10.3390/ani5020363.

Jørgensen J.N., Lagunab J.S., Millán C., Casabuena O., Gracia M.I. Effects of a Bacillus-based probiotic and dietary energy content on the performance and nutrient digestibility of wean to finish pigs. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 2016, 221: 54-61.

Musial F., A. Kowalski, P. Enck and K.T. Kalveram. A computer controlled, long-term recording system for studying eating, drinking and defecation behaviour in miniature pigs. *Physiology and Behaviour*, 1999, 68:73-80.

Roselli M., Pieper R., Rogel-Gaillard C., de Vries H., Bailey M., Smidt H., et al. Immunomodulating effects of probiotics for microbiota modulation, gut health and disease resistance in pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 233: 104-119.

Stokes C, Bailey M., Haverson K., Harris C., Jones P., Inman C., et al. Postnatal development of intestinal immune system in piglets: implications for the process of weaning. *Animal Research*, 2004, 53, 525-534.

Sutherland M.A., Krebs N., Smith J.S., Dailey J.W., Carroll J.A., McGlone J.J. The effect of three space allowances on the physiology and behavior of weaned pigs during transportation. *Livest. Sci.* 2009, 126, 183–188.

Whittemore C.T. (2000) *The practice and science of pig production*. Longman Scientific and technical.



*Progetto Filiera – Reg. (UE) 1305/2013 – PSR 2014/2020 DGR Emilia-Romagna
n. 227/2017 e s.m.i. - FOCUS AREA 3A - Operazione 16.2.01 - Capofila: Agricola Tre Valli*

Bologna, 24/02/2020

Prof. Paolo Trevisi