



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

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE N. 2286/2021

FOCUS AREA 3A

RELAZIONE TECNICA FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO 5415052

DOMANDA DI PAGAMENTO 5850648

Titolo progetto	GREEN SUINO - sostenibilità GREEN della filiera del SUINO pesante mediante la definizione di nuove strategie alimentari negli allevamenti senza compromettere la qualità del prodotto trasformato e soluzioni di packaging innovativi per la commercializzazione.
Ragione sociale del beneficiario	MARTINI SPA

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18
Data inizio attività	01/10/2022

Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	25/06/2024
---	------------

Relazione relativa al periodo di attività dal	01/10/2022	Al 25/06/2024
---	------------	---------------

Data rilascio relazione	06/08/2024
-------------------------	------------

Autore della relazione	Martini spa		
telefono		e-mail	MARTINISPA@LEGALMAIL.IT
pec	MARTINISPA@LEGALMAIL.IT		

RESPONSABILE DEL PROGETTO

PEC MARTINISPA@LEGALMAIL.IT

Ente di appartenenza MARTINI SPA

RESPONSABILE SCIENTIFICO DEL PROGETTO

PEC distal.dipartimento@pec.unibo.it

Ente di appartenenza UNIBO

Sommario

1	DESCRIZIONE DEL PROGETTO	4
1.1	STATO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PROGETTO	4
2	DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE	4
2.1	ATTIVITÀ E RISULTATI	4
2.2	PERSONALE	5
2.3	COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI	5
2.4	SPESE PER ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E DISSEMINAZIONE	6
2.5	SPESE PER MATERIALE DUREVOLE E ATTREZZATURE, INVESTIMENTI IMMATERIALI	6
2.6	MATERIALI E LAVORAZIONI DIRETTAMENTE IMPUTABILI ALLA REALIZZAZIONE DEI PROTOTIPI	6
2.7	LOCAZIONE	7
3	CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ	7
4	ALTRE INFORMAZIONI	7
5	CONSIDERAZIONI FINALI	8
6	RELAZIONE TECNICA	8

1 DESCRIZIONE DEL PROGETTO

Descrivere brevemente il quadro di insieme relativo alla realizzazione del progetto

Il progetto Green Suino si è posto l'obiettivo di sviluppare una linea di produzione suina a basso impatto ambientale, focalizzandosi sul miglioramento della salute e del benessere degli animali e sull'incremento della competitività della filiera produttiva. Attraverso un approccio integrato, che include la revisione delle pratiche alimentari e lo sviluppo di soluzioni innovative per il packaging, il progetto ha mirato a valorizzare le peculiarità dei prodotti derivanti dalla fase agricola. La cooperazione tra i vari attori della filiera ha giocato un ruolo cruciale, facilitando la condivisione delle conoscenze e delle best practices.

Le azioni specifiche intraprese hanno incluso la revisione dei fabbisogni di Arginina nella dieta delle scrofe gestanti, la comparazione di additivi per mangimi, lo studio degli effetti della riduzione della quota proteica e della parziale sostituzione della soia, e lo sviluppo di un prototipo di packaging sostenibile. Inoltre, sono stati organizzati eventi e materiali informativi per la diffusione dei risultati del progetto agli attori della filiera suina.

I risultati ottenuti hanno consentito di portare nuove conoscenze in relazione ad una corretta gestione della fase di gestazione e di post svezzamento e di ingrasso attraverso l'adozione di diete basate sul concetto di parziale sostituzione della soia con fonti proteiche a minor impatto ambientale, senza compromettere le performance produttive e il livello qualitativo della carne. Le azioni condotte richiedono ulteriori e approfonditi studi per valutare l'effetto delle soluzioni alimentari proposte e trovare il giusto equilibrio, tuttavia è stato possibile ottenere indicazioni utili e linee di indirizzo per apportare un miglioramento sia sul fronte produttivo che della sostenibilità.

1.1 STATO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PROGETTO

Azione	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
AZIONE ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE	Coordinamento e gestione del Piano	Luglio 2022	Ottobre 2022	Dicembre 2023	Giugno 2024
AZIONE 1	Revisione dei fabbisogni in Arginina nella dieta delle scrofe gestanti per migliorarne le performance produttive	Luglio 2022	Ottobre 2022	Maggio 2023	Giugno 2024
AZIONE 2	Comparazione di additivi per mangimi sulla salute e le performance di crescita di suinetti allo svezzamento	Aprile 2023	Giugno 2023	Agosto 2023	Maggio 2023
AZIONE 3	Effetto della riduzione della quota proteica e la parziale sostituzione della soia in una dieta da ingrasso	Gennaio 2023	Marzo 2023	Settembre 2023	Gennaio 2024
AZIONE 4	Effetto della parziale sostituzione della soia sulle caratteristiche qualitative della carne	Settembre 2023	Dicembre 2023	Novembre 2023	Marzo 2024
AZIONE 5	Messa a punto di un prototipo di packaging sostenibile per la commercializzazione delle carni	Luglio 2022	Ottobre 2022	Dicembre 2023	Marzo 2024
AZIONE DIVULGAZIONE	Divulgazione dei risultati	Luglio 2022	Ottobre 2022	Dicembre 2023	Giugno 2024

2 DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE

Compilare una scheda per ciascuna azione

2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	Esercizio della Cooperazione
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p><i>Al fine di monitorare l'avanzamento del progetto e porre in essere eventuali e necessarie azioni correttive, il piano d'innovazione ha previsto la realizzazione di un'azione trasversale rappresentata dall'esercizio della cooperazione.</i></p> <p><i>Lo svolgimento dell'azione è stato articolato in due macrofasi principali: avviamento amministrativo e organizzazione e controllo dello stato di avanzamento del progetto.</i></p> <p><i>Nella fase di avviamento amministrativo, sono stati costituiti il Comitato di Gestione e il Comitato Scientifico. Il primo ha avuto il compito di supervisionare l'intero progetto, garantendo una corretta allocazione delle risorse e il perseguimento degli obiettivi strategici, mentre il secondo ha fornito consulenza e guida sulle questioni tecniche e scientifiche. Sono state definite anche le procedure amministrative necessarie per una gestione efficiente, inclusi i metodi di rendicontazione e monitoraggio dei progressi.</i></p> <p><i>La seconda fase ha riguardato l'organizzazione dettagliata e il controllo rigoroso dello stato di avanzamento delle attività. Sono stati organizzati incontri regolari di coordinamento con i vari attori del progetto e i fornitori incaricati, che hanno permesso di stabilire ruoli e tempi delle attività e di rispondere prontamente a eventuali criticità. È stato implementato un sistema di monitoraggio continuo per verificare i progressi rispetto agli obiettivi prefissati e identificare eventuali aree di miglioramento. Inoltre, è stata garantita una gestione efficace delle risorse attraverso una pianificazione attenta e un controllo rigoroso delle spese.</i></p> <p><i>L'azione di esercizio della cooperazione ha assicurato il buon funzionamento del progetto Green Suino, consentendo una gestione coordinata e integrata delle diverse attività. Grazie alla stretta collaborazione tra tutti i partecipanti, gli obiettivi del progetto sono stati raggiunti nei tempi previsti. L'organizzazione strutturata e il controllo continuo hanno garantito un'alta efficienza operativa, minimizzando gli sprechi e ottimizzando l'uso delle risorse. La cooperazione ha anche facilitato la condivisione delle best practices tra i vari attori, migliorando la qualità complessiva delle attività e dei risultati ottenuti.</i></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><i>L'azione di esercizio della Cooperazione è stata fondamentale per monitorare l'andamento del Piano e garantire il raggiungimento dei risultati prefissati, contribuendo in modo significativo al successo complessivo del progetto Green Suino.</i></p> <p><i>Lo svolgimento dell'attività non ha riscontrato particolari criticità durante lo svolgimento del piano.</i></p>
Azione 1	Revisione dei fabbisogni in Arginina nella dieta delle scrofe gestanti per migliorarne le performance produttive

Descrizione delle attività	<p>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</p> <p>L'azione si poneva l'obiettivo di valutare l'effetto dell'integrazione di arginina (Arg) durante diversi periodi di gestazione e le stagioni produttive, con l'obiettivo di migliorare le prestazioni produttive delle scrofe e dei suinetti, nonché la composizione del colostro e il profilo microbico intestinale. I test e le prove effettuate hanno visto la suddivisione di 320 scrofe in 4 gruppi a cui sono state assegnate e somministrate differenti diete fino ad una settimana prima del parto.</p> <p>L'integrazione di arginina nelle scrofe gestanti ha dimostrato potenziali benefici per la salute e la crescita dei suinetti. Tuttavia, ulteriori ricerche sono necessarie per ottimizzare i protocolli di somministrazione e garantire che questa pratica sia economicamente vantaggiosa per gli allevatori.</p> <p>Di seguito si riassumono i principali risultati ottenuti:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Integrazione nell'Ultima Fase di Gestazione <ul style="list-style-type: none"> ○ La somministrazione di 38.3 g/giorno di Arg per capo nell'ultima fase di gestazione ha mostrato risultati positivi, riducendo la percentuale di suinetti nati morti e aumentando la percentuale di suinetti nati con un peso superiore a 1.7 kg. Questo indica che l'integrazione di Arg in questa fase può migliorare la vitalità e la robustezza dei suinetti alla nascita. 2. Integrazione all'Inizio della Gestazione <ul style="list-style-type: none"> ○ Quando somministrata all'inizio della gestazione, l'Arg ha ridotto la percentuale di suinetti nati morti e la percentuale di suinetti nati sottopeso. Ciò suggerisce che l'Arg supporta lo sviluppo embrionale e fetale precoce, migliorando la sopravvivenza e la crescita dei suinetti. 3. Integrazione durante Tutta la Gestazione <ul style="list-style-type: none"> ○ La somministrazione di Arg durante l'intera gestazione non ha migliorato le performance produttive della scrofa né la qualità del colostro. Questo suggerisce che l'efficacia dell'Arg può essere specifica per determinati periodi della gestazione e che una somministrazione continua potrebbe non essere necessaria o vantaggiosa.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p>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</p> <p>L'azione è stata realizzata come da piano iniziale e ha consentito di ottenere utili indicazioni in relazione all'integrazione di Arginina nella dieta della scrofa gestante e pertanto si può affermare che gli obiettivi preposti sono stati pienamente raggiunti. Ciò premesso i risultati ottenuti evidenziano la necessità di approfondire i fabbisogni di Arg nella scrofa gestante, seppure si dovrà valutare con cura se il costo dell'integrazione comporta un reale vantaggio economico per l'allevatore.</p>

Azione 2	Comparazione di additivi per mangimi sulla salute e le performance di crescita di suinetti allo svezzamento.
Descrizione delle attività	<p>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</p> <p>L'azione 2 si poneva come obiettivo di confrontare l'efficacia di diversi additivi innovativi nel migliorare la salute dei suinetti durante la fase di svezzamento, riducendo l'uso di antimicrobici senza compromettere le performance.</p> <p>Presso un sito del Gruppo Martini, sono stati selezionati 814 suinetti, ciascuno etichettato e pesato individualmente. I suinetti sono stati divisi in tre gruppi sperimentali, bilanciati per peso vivo e nidati.</p> <p>Al giorno dello svezzamento, i suinetti sono stati trasferiti in un secondo sito e allevati in box. I tre gruppi sono stati alimentati con:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Una dieta di controllo positivo, comunemente utilizzata nello svezzamento. 2. La stessa dieta di controllo positivo, integrata con diversi additivi selezionati dal Gruppo Martini. <p>I tecnici di Martini spa hanno verificato periodicamente lo stato di salute dei suini, registrando quotidianamente il numero d'auricolare dei suini trasferiti in infermeria o deceduti. È stato monitorato e registrato l'uso di antibiotici e farmaci antinfiammatori, inclusi dose e durata della somministrazione.</p> <p>I mix di additivi oggetto di prova non hanno dimostrato effetti migliorativi rispetto alla dieta usata normalmente nell'allevamento in prova. Sotto il profilo delle performance zootecniche i mix di additivi oggetto di prova non hanno determinato miglioramenti significativi e sono risultati meno efficienti dal punto di vista</p>

	<p>produttivo. Per quanto concerne le analisi del profilo microbico si è evidenziato una leggera modifica del microbiota intestinale, senza aver determinato nessun effetto sui marcatori della salute intestinale. In termini di impatto ambientale il mix di additivi in oggetto di prova non ha influenzato la concentrazione dei gas legati all'impatto ambientale.</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p>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</p> <p>Obiettivo dell'azione in oggetto era la comparazione dell'efficacia di diversi additivi innovativi per migliorare la salute dei suinetti nell'ottica di ridurre l'uso di antimicrobici nella fase di svezzamento, senza conseguenze negative sulle performance.</p> <p>A conclusione si può affermare che l'attività è stata correttamente realizzata e gli obiettivi sono stati raggiunti.</p>

Azione 3	<p>Effetto della riduzione della quota proteica e la parziale sostituzione della soia in una dieta da ingrasso</p>
Descrizione delle attività	<p>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</p> <p>L'azione ha valutato l'impatto di una dieta a basso tenore proteico, con parziale sostituzione della soia con prodotti proteici di origine UE, sulle performance produttive dei suini e sulla qualità della carne, mantenendo elevati standard di benessere animale e riducendo l'uso di antimicrobici. Coinvolgendo circa 1600 suini a coda non tagliata, suddivisi in due gruppi omogenei presso un sito del Gruppo Martini, il primo gruppo è stato alimentato con una dieta base, mentre il secondo con una dieta in cui parte della soia è stata sostituita con fonti proteiche alternative di origine UE. Le diete sono state isoproteiche e la composizione è stata controllata attraverso analisi periodiche. Il peso dei suini è stato registrato all'ingresso e all'uscita. Dopo dieci giorni dall'accasamento, sono state rilevate lesioni a coda e orecchie, con successivi controlli mensili. È stata misurata la concentrazione di gas ambientali (NH3, CO2, H2S) e raccolte setole per l'analisi del cortisolo come marcatore di stress cronico. Campioni di feci sono stati prelevati per misurare il contenuto di ammoniaca e acidi grassi volatili.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p>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</p> <p>La presente azione mirava a valutare l'impatto di una dieta a basso tenore proteico, con parziale sostituzione della soia con prodotti proteici di origine UE, sulle performance produttive dei suini e sulla qualità della carne, mantenendo elevati standard di benessere animale e riducendo l'uso di antimicrobici. Il completamento dell'azione ha consentito di raggiungere l'obiettivo preposto senza rilevare particolari scostamenti.</p>

Azione 4	<p>Effetto della parziale sostituzione della soia sulle caratteristiche qualitative della carne.</p>
----------	--

<p>Descrizione delle attività</p>	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p><i>L'azione in oggetto è stata finalizzata a verificare l'impatto del piano alimentare adottato sulle caratteristiche della carcassa e sulla qualità della carne. Una volta raggiunto il peso di macellazione, i suini sono stati trasportati al macello del Gruppo Martini, dove è stato effettuato un campionamento dettagliato per valutare l'efficacia delle strategie di alimentazione. Durante la macellazione, sono stati assegnati punteggi per le lesioni sulle carcasse, suddivise in sei aree specifiche, e sono stati raccolti dati su carcasse rifilate o escluse dal commercio a causa di ascessi.</i></p> <p><i>Per ogni partita macellata, sono stati raccolti dati specifici sulle caratteristiche delle cosce e sono state effettuate analisi su 30 campioni di muscolo L. lumborum. Queste analisi hanno riguardato il valore nutrizionale, le caratteristiche tecnologiche (come pH, colore, capacità di ritenzione idrica, sforzo di taglio e suscettibilità all'ossidazione) e ulteriori test specifici condotti dal personale interno del Gruppo Martini per valutare il contenuto lipidico, il profilo degli acidi grassi e degli aminoacidi liberi.</i></p> <p><i>Le caratteristiche organolettiche della carne, fondamentali per la valorizzazione del prodotto, sono state valutate attraverso parametri come colore, odore e sapore, utilizzando attrezzature specifiche per misurare la riflettenza e la presenza di pigmenti proteici.</i></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><i>Nel complesso, gli obiettivi dell'azione sono stati raggiunti. Le informazioni ottenute contribuiranno a ottimizzare le strategie alimentari e a perfezionare le pratiche della filiera produttiva del Gruppo Martini.</i></p>

<p>Azione 5</p>	<p>Messa a punto di un prototipo di packaging sostenibile per la commercializzazione delle carni</p>
<p>Descrizione delle attività</p>	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p><i>Obiettivo principale della presente azione è individuabile nella ricerca di soluzioni sostenibili di confezionamento, obiettivo che è stato perseguito mediante lo sviluppo di un packaging che preservi la qualità del prodotto durante la commercializzazione e distribuzione, rispettando al contempo criteri di sostenibilità ambientale. Nel corso di realizzazione di questa attività, è stata avviata una progettazione completa del nuovo packaging, considerando vari fattori tra cui la facilità di utilizzo, l'efficienza produttiva e la gestione del prodotto sul punto vendita. L'aspetto cruciale era però il rispetto dei requisiti ambientali. Il design del packaging ha esplorato l'uso di materiali riciclati e riciclabili, riducendo al minimo l'impiego di plastica non sostenibile. I materiali utilizzati includono carta e cartone certificati o riciclati e plastiche riciclate o biobased, con l'obiettivo di garantire un impatto ambientale ridotto.</i></p> <p><i>Il prototipo di packaging sviluppato ha soddisfatto le esigenze di sostenibilità e di funzionalità. Per assicurare l'efficacia del prototipo, sono stati eseguiti test approfonditi presso il Laboratorio interno dello stabilimento di macellazione, con analisi microbiologiche e valutazioni organolettiche per determinare la qualità e la shelf-life del prodotto confezionato.</i></p> <p><i>I risultati relativi ai test per la shelf life effettuati sulle fettine di lombo nei diversi formati hanno attestato che il colore è equivalente e tende a impallidire al 13° giorno, mentre al 15° giorno tutte le fettine manifestano un colore tendente al grigio e odore di ossidato. Relativamente alla lonza a fette, i risultati dell'analisi sensoriale hanno messo in luce lievi differenze in termini di masticabilità, colore e sapore. Nel complesso, ha riscontrato un maggiore gradimento la carne ottenuta da animali con alimentazione "standard". Le prove di shelf life sulle fettine di lombo non hanno evidenziato differenze significative in termini di carica microbica ed anche a livello organolettico tutti i</i></p>

	<p><i>campioni si sono comportati in modo analogo ed hanno iniziato a cambiare colore dopo il 13° giorno. Anche l'analisi sensoriale condotta sugli hamburger ha di fatto attestato che fra i due campioni di hamburger di suino non sono state percepite differenze significative in termini sensoriali.</i></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><i>L'attività è stata realizzata nella sua interezza consentendo di raggiungere gli obiettivi previsti. Le analisi e i test condotti non hanno però portato all'identificazione di un format di packaging in grado di apportare un sensibile miglioramento in termini di miglioramento delle caratteristiche qualitative del prodotto. Tuttavia a parità di livello qualitativo e di prestazioni in termini di shelf life, i format testati rappresentano un'alternativa sostenibile e consentono di migliorare comunque la competitività e la redditività aziendale.</i></p>

Divulgazione	
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p><i>La divulgazione delle innovazioni messe a punto dal piano d'innovazione GREEN SUINO ha visto la realizzazione di un piano organico formato da incontri tecnici, un convegno finale, pubblicazioni scientifiche e la creazione di una pagina web dedicata. Nel dettaglio, sono stati organizzati due meeting tecnici: il primo, che ha avuto luogo nei primi mesi di attività, in data 21/12/2021, ha introdotto il progetto e fornito una panoramica generale ai partecipanti. Il secondo meeting, svoltosi al termine del progetto, in data 04/04/2024, ha illustrato i risultati ottenuti e le loro implicazioni per la filiera, permettendo un confronto diretto con gli operatori e i tecnici.</i></p> <p><i>In aggiunta, a conclusione del progetto è stato realizzato un convegno tecnico-divulgativo che ha trattato approfonditamente le tematiche del progetto e le sue ricadute sulla filiera del suino pesante. Questo evento ha facilitato la diffusione delle conoscenze a un pubblico più ampio di professionisti e stakeholder del settore. I risultati del progetto sono stati anche presentati in una comunicazione scientifica durante il convegno, contribuendo alla diffusione della conoscenza scientifica. Inoltre, sono stati pubblicati due articoli tecnico-divulgativi sulla rivista specializzata "Suinicultura", nel redazionale di febbraio e di Marzo, per raggiungere ulteriormente gli esperti del settore. Ulteriori articoli di stampa possono essere trovati ai seguenti link:</i></p> <p>https://www.3tre3.it/notizie-aziende/gruppo-martini-lancia-nuova-linea-suini_15065/</p> <p>https://www.alimentando.info/martini-annuncia-il-progetto-green-suino-per-allevamenti-piu-sostenibili-e-una-filiera-piu-competitiva/</p> <p>https://www.pubblicitaitalia.com/carne/martini-ha-presentato-green-suino</p> <p>https://www.foodaffairs.it/2024/08/06/il-gruppo-martini-lancia-il-progetto-green-suino-per-rendere-lallevamento-suinicolo-piu-sostenibile/</p> <p><i>Per garantire una visibilità continua e accessibile dei risultati del progetto, è stata creata una pagina web dedicata (https://www.martinizootecnica.com/green-suino/), collegata al sito del Gruppo Martini. Questa piattaforma online ha fornito aggiornamenti e dettagli sul progetto, facilitando l'accesso alle informazioni per un pubblico più vasto. Sulla medesima pagina sono stati caricati i materiali che sono disponibili per il download.</i></p> <p><i>L'attività di divulgazione è stata realizzata principalmente dal fornitore UNIBO, supportato dal personale del beneficiario e dal fornitore Artemis, con la direzione scientifica affidata al gruppo di ricerca dell'Università, che ha garantito la qualità dei</i></p>

	contenuti e della documentazione.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p>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</p> <p>L'attività di divulgazione del progetto ha mirato a diffondere e valorizzare i risultati ottenuti attraverso una serie di iniziative strategiche. L'obiettivo principale è stato quello di garantire che le innovazioni e le conoscenze generate raggiungessero efficacemente gli operatori, i tecnici e gli altri attori della filiera del suino. Viste le iniziative portate a termine e il successo delle stesse si può affermare che l'attività di divulgazione ha raggiunto i suoi obiettivi, assicurando una comunicazione efficace dei risultati del progetto e promuovendo le innovazioni sviluppate nella filiera del suino. Le varie iniziative hanno permesso di raggiungere gli attori chiave del settore e di garantire che le conoscenze generate fossero ampiamente condivise e valorizzate.</p>

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.

Cognome e nome	Mansione/qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario		Ore	Costo totale
	Dirigente	Resp. organizzativo	124,29	70	8.700,30	
	Dirigente	Resp. organizzativo	113,21	290	32.830,90	
	IMPIEGATO 3 liv	Test e prove suini	36,66	52	1.906,32	
	IMPIEGATO 3 liv	Test e prove suini	34,98	188	6.576,24	
	impiegato	Test e prove suini	46,33	68	3.150,44	
	impiegato	Test e prove suini	41,10	172	7.069,20	
	Quadro	Test e prove suini - divulgazione	82,99	78	6.473,22	
	Quadro	Test e prove suini - divulgazione	83,13	282	23.442,63	
	Impiegato	Test carni e messa a punto prototipo	43,84	240	10.521,60	
	Impiegato	Test carni	24,74	240	5.937,60	
					Totale:	106.608,48

2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

CONSULENZE ESTERNE - PERSONE FISICHE

Nominativo del consulente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
ARTEMIS SRL		13.000,00	Esercizio cooperazione e divulgazione	13.000,00
PUBLIONE		4.800,00	Divulgazione	4.800,00
Alma Mater Studiorum Università di Bologna -		105.548,00	Consulenza per ricerca	105.548,00
Totale:				123.348,00

2.4 SPESE PER ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E DISSEMINAZIONE

Fornitore	Descrizione	Costo
Totale:		

2.5 SPESE PER MATERIALE DUREVOLE E ATTREZZATURE, INVESTIMENTI IMMATERIALI

Fornitore	Descrizione	Costo
Totale:		

2.6 MATERIALI E LAVORAZIONI DIRETTAMENTE IMPUTABILI ALLA REALIZZAZIONE DEI PROTOTIPI

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

Fornitore	Descrizione	Costo
		Totale:

2.7 LOCAZIONE

Fornitore	Descrizione	Costo
		Totale:

3 CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ

Lunghezza max 1 pagina

<p>Criticità tecnico scientifiche</p>	<p>L'organicità del piano d'innovazione, rappresentata dall'integrazioni di aspetti tecnico produttivi con elementi di natura commerciale e di mercato, ha rappresentato la principale sfida tecnico scientifica riscontrata. Se da un lato la formulazione di diete ottimali per le scrofe durante la gestazione e per i suinetti durante lo svezzamento ha richiesto un'attenta valutazione degli ingredienti, delle loro proporzioni e dell'efficacia delle combinazioni alimentari, dall'altro l'adozione di materiali di packaging sostenibili ha dovuto garantire non solo la riduzione dell'impatto ambientale ma anche la preservazione della qualità e della shelf life del prodotto. Tali criticità sono state gestite sin dalle prime fasi di progettazione e per tutta la durata del piano grazie ad un'efficace azione di monitoraggio che ha consentito di apportare delle azioni correttive fondamentali per il raggiungimento degli obiettivi preposti.</p> <p>In sintesi, nonostante le criticità tecnico-scientifiche riscontrate, il piano di innovazione Green Suino ha consentito di incrementare le conoscenze di base e portare a importanti progressi utili anche per ulteriori future azioni di ricerca e sperimentazione. Sotto questo profilo le sfide affrontate hanno fornito preziose lezioni e spunti per futuri progetti, migliorando la capacità del team di gestire complessità e variabilità.</p>
<p>Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)</p>	<p>A livello gestionale non sono state riscontrate criticità aggiuntive rispetto a quelle specificatamente previste dalla natura stessa della tipologia di iniziativa, contraddistinta da un elevato livello di complessità. Nello specifico lo svolgimento del piano ha richiesto un serrato coinvolgimento e aggiornamento dei fornitori interpellati e il coordinamento di un team di ricerca interno ed esterno.</p>

Criticità finanziarie

A livello finanziario la presenza di un soggetto solido e strutturato come Martini non ha generato criticità tali da ostacolare il regolare avanzamento del piano.

4 ALTRE INFORMAZIONI

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

Ulteriori informazioni tecniche in relazione alle azioni progettuali sono riportate nei seguenti documenti:

- Report Finale
- Report Azione 5 e Presentazione nuovo Pack

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

Non si rilevano considerazioni utili da trasmettere all'Amministrazione

6 RELAZIONE TECNICA

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

Il Piano di innovazione "GREEN SUINO" è stato realizzato con successo, portando a termine le attività previste. Il progetto ha mirato a definire una linea di produzione a basso impatto ambientale, migliorando la salute e il benessere degli animali e aumentando la competitività della filiera e dei produttori. L'obiettivo finale era valorizzare queste peculiarità in linee di prodotti innovativi, con confezioni che riflettessero la filosofia sostenibile del prodotto agricolo.

Nel corso della realizzazione del progetto "GREEN SUINO", sono state implementate una serie di attività mirate al miglioramento della sostenibilità e della competitività della filiera suina. Un elemento cruciale è stato l'esercizio della cooperazione, che ha coinvolto una stretta collaborazione tra i vari attori della filiera. Tale sinergia ha permesso una condivisione efficace delle conoscenze e delle best practices, fondamentali per il successo del progetto. Entrando nel vivo delle attività specifiche condotte, il progetto ha visto la realizzazione delle seguenti azioni:

1. **Revisione dei fabbisogni di Arginina:** È stata condotta una revisione dei fabbisogni di Arginina nella dieta delle scrofe gestanti, con l'obiettivo di migliorare le performance produttive attraverso un'integrazione ottimale di questo amminoacido.
2. **Comparazione di additivi per mangimi:** Sono stati confrontati vari additivi per mangimi, valutandone l'impatto sulla salute e sulle performance di crescita dei suinetti allo svezzamento.
3. **Riduzione della quota proteica:** È stato effettuato uno studio sull'effetto della riduzione della quota proteica e della parziale sostituzione della soia in una dieta da ingrasso, ottenendo risultati significativi in termini di qualità complessiva.
4. **Analisi delle caratteristiche della carne:** È stata analizzata l'influenza della parziale sostituzione della soia sulle caratteristiche qualitative della carne, assicurando prodotti di elevata qualità.
5. **Sviluppo di un prototipo di packaging sostenibile:** È stato sviluppato un prototipo di packaging sostenibile, caratterizzato da funzionalità, attrattività e basso impatto ambientale. Questo packaging, realizzato con materiali riciclati e/o riciclabili, ha migliorato il controllo sulla shelf life del prodotto e ridotto le perdite.

Al fine di garantire una diffusione capillare dei risultati ottenuti, sono stati organizzati eventi e realizzati materiali informativi destinati agli attori della filiera suina. Queste azioni di divulgazione hanno permesso di comunicare efficacemente i progressi e le innovazioni del progetto, promuovendo una maggiore consapevolezza e adozione delle pratiche sostenibili.

Per quanto concerne le ricadute del presente piano di innovazione si evidenzia un impatto su diversi ambiti: produttivo, economico, ambientale e sociale. Sul fronte produttivo le azioni realizzate hanno consentito di portare nuove conoscenze in relazione al percorso di eliminazione dell'impiego di antimicrobici nelle diete da svezzamento, migliorando le conoscenze sull'efficacia di strategie dietetiche mirate sia nella fase di gestazione sia di svezzamento, senza compromettere la salute ed il benessere dei suini. Sebbene lo sviluppo delle attività previste non abbia consentito l'individuazione di una formulazione completa in grado di sostituire una dieta a base di soia con fonti proteiche alternative, i test e le prove condotte hanno permesso di ottenere indicazioni utili e precise in relazione all'impatto di tale tipologia di alimentazione sui parametri tecnico-produttivi. Infatti sebbene siano stati ottenuti risultati positivi in relazione allo specifico quantitativo di arginina somministrata in relazione alla mortalità dei suini al momento della nascita e al peso dei suinetti nati, occorrono ulteriori analisi per verificare l'impatto sulle performance produttive nella fase di gestazione e sulla qualità del colostro. Anche in relazione al mix di additivi oggetto di prova le analisi condotte non hanno dimostrato effetti migliorativi rispetto alla dieta usata normalmente nell'allevamento in prova. Ciò denota la necessità di ripetere tali prove con altri mix di additivi che potrebbero potenzialmente essere efficaci in queste condizioni.

Per quanto concerne le ricadute economiche il piano d'innovazione ha posto le basi per un rafforzamento della filiera con un impatto positivo sul posizionamento delle produzioni anche in funzione della messa a punto di prodotti e packaging che tengano in opportuna considerazione elementi di sostenibilità ambientali, oggi sempre più richiesti dal mercato e dai consumatori. Lo svolgimento del piano oltre alle analisi specifiche sulla fase di allevamento e in particolare sulla gestione di un'alimentazione a minor impatto ambientale, ha previsto la messa a punto di uno specifico formato di packaging in grado di preservare le caratteristiche qualitative del prodotto riducendo al contempo l'impatto ambientale. Questi elementi pongono le basi anche per un impatto dello stesso piano in termini di ricadute ambientali. Le ricadute sociali individuabili sono sempre considerabili come riflesso dell'impatto ambientale anche in relazione agli aspetti attinenti alla salute dei consumatori. Lo sviluppo di un sistema produttivo attento alla sostenibilità economica e ambientale, oltre che alla massimizzazione del livello qualitativo delle produzioni, si traduce in un'importante prerogativa per la focalizzazione su tematiche che esulano dalle mere logiche produttive ed economiche e restituiscono importanza e centralità ad elementi di natura sociale.

Data 06/08//2024

Firme del Responsabile scientifico

.....

Firma del legale rapp.te

.....

REPORT FINALE

PSR GRUPPO MARTINI SPA

PROGETTO GREENSUINO

Sostenibilità GREEN della filiera del SUINO pesante mediante la definizione di nuove strategie alimentari negli allevamenti senza compromettere la qualità del prodotto trasformato e soluzioni di packaging innovativi per la commercializzazione

AZIONE 1

Revisione dei fabbisogni in Arginina nella dieta delle scrofe gestanti per migliorarne le performance produttive

Prof. Paolo Trevisi

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

Introduzione

Le moderne linee genetiche di suini sono caratterizzate da elevata prolificità. L'elevato numero di animali per nidiata porta spesso ad una maggiore disomogeneità di peso tra i soggetti della nidiata, con una maggiore percentuale di animali sottopeso (< 1 kg) (Wang et al., 2016). Il minor peso alla nascita è positivamente correlato ad una ridotta vitalità dell'animale e ad una immaturità fisiologica (Foxcroft et al., 2009). Ne deriva, quindi, un maggiore tasso di mortalità e morbilità durante il periodo pre-svezzamento (Škorput et al., 2018). In aggiunta alle caratteristiche della nidiata, le scrofe ad elevata prolificità sembrano essere caratterizzate da una inadeguata produzione di colostro e di latte, sia in termini di qualità che di quantità (Oliviero et al., 2019). In letteratura, è riportato che l'assunzione di colostro in quantità sufficienti entro le prime ore di vita dell'animale è cruciale: secondo Hasan et al. (2019), il 50% dei suinetti che assume dosi insufficienti di colostro entro le prime 24 ore di vita muore prima dello svezzamento. Lo stesso autore ha dimostrato come un'adeguata assunzione di colostro favorisca un migliore incremento ponderale giornaliero ed il raggiungimento di un peso maggiore allo svezzamento.

Per ovviare queste criticità, si possono adottare strategie nutrizionali volte a sfruttare appieno il potenziale genetico delle linee iperprolifiche ed al tempo stesso a garantire un buono stato sanitario ed etologico degli animali.

A tal proposito, l'arginina (Arg) è stata recentemente classificata come amino acido condizionatamente essenziale per le scrofe gestanti (National Research Council (NRC), 2012). L'Arg, infatti, è coinvolta in numerosi processi metabolici ed è precursore di molecole fondamentali per l'organismo quali la prolina e l'ornitina, l'ossido nitrico e le poliammine che favoriscono la vascolarizzazione e l'angiogenesi placentare (Gardner et al., 2001). Queste funzioni permettono una maggiore efficienza della placenta favorendo minore competizione fetale per l'assunzione dei nutrienti (Wu, 2009). Ne consegue quindi una minore disomogeneità della nidiata in termini di peso alla nascita che, come visto in precedenza, è una delle criticità delle linee genetiche moderne (Wang et al., 2016).

Ad oggi, la dose di Arg digeribile consigliata dall'NRC (2012) per le scrofe in fase di gestazione è mediamente pari a 5.52 g/kg. Questi valori sono inferiori a quelli descritti nelle diete utilizzate negli studi disponibili in letteratura che, da una nostra ricerca bibliografica descritta nella sezione dei Materiali e Metodi di questo report, è mediamente pari a 6.55 g/kg. Tale discrepanza evidenzia la necessità di verificare i fabbisogni di Arg delle scrofe gestanti.

È stato osservato inoltre che il periodo della gestazione nel quale avviene l'integrazione di Arg determina effetti diversi. Infatti pare che nelle prime settimane di gestazione l'Arg, grazie alla sua azione angiogenica, favorisca la vascolarizzazione della placenta, mentre nell'ultimo terzo della gestazione, grazie alla sua azione anabolica, possa favorire l'accrescimento dei feti. Nonostante i molteplici benefici legati all'integrazione di Arg nella dieta, risulta ancora poco studiato il suo effetto durante l'intera gestazione.

È stato quindi ipotizzato che una dose supplementare di Arg, somministrata in fasi diverse della gestazione, potesse avere degli effetti positivi sulle performance produttive della scrofa al parto e durante la fase di lattazione e della nidata sia in termini di peso alla nascita che di performance di crescita.

Obiettivo

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia di una dieta arricchita con Arg rispetto alla dieta standard utilizzata dal Gruppo Martini e somministrata alle scrofe in diverse fasi della gestazione, sulle loro performance riproduttive, le caratteristiche del colostro ed il profilo microbico e salute intestinale, e sulle loro prestazioni materne, valutate in termini di sopravvivenza, peso ed omogeneità della nidata alla nascita e allo svezzamento.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato condotto presso la scrofaia associata alla filiera Gruppo Martini S.p.A. (Azienda Agricola Salvaderi, Maleo, LO). La scrofaia ospita circa 1250 scrofe ed il ciclo produttivo avviene su bande settimanali dinamiche da circa 75 scrofe/banda.

La dieta (**Tabella 1 e 2**), sia nella sala gestazione che nella sala parto, è somministrata con un sistema di alimentazione automatico Spotmix Schauer Agrotronic GmbH).

Nel "settore gestazione", l'allevamento adotta la gestione delle scrofe in gruppo per tutta la durata della gestazione ed ogni box è munito di una postazione di alimentazione dotata di lettore per l'identificazione dell'animale tramite marca auricolare munita di chip. In sintesi, il sistema riconosce l'animale e rilascia in mangiatoia la dose di mangime stabilita (minimo 10 grammi per calata). I box sono inoltre muniti di una tramoggia posta sopra la mangiatoia che permette di dosare on-top un additivo agli animali selezionati.

Nel "settore parto-allattamento" il sistema Spotmix permette la calata di una dose controllata per ogni scrofa ed è dotato di micro-tramogge per la somministrazione on-top di additivi alle scrofe selezionate.

Gruppi sperimentali e diete

Nella prova sono state incluse 416 scrofe allevate in due periodi diversi. Il primo periodo ha corrisposto alla fase di gestazione durante l'estate (inizio luglio 2022), mentre il secondo ciclo si è svolto nella stagione fredda (inizio novembre 2023). Le scrofe sono state suddivise in quattro gruppi alimentari bilanciati per peso all'ingresso in sala gestazione e ordine di parto (**Tabella 3**):

1. Gruppo controllo (CO) ha ricevuto la dieta costituita dalla formulazione normalmente utilizzata in allevamento durante la gestazione. Il livello di Arg in questa dieta era fornito dalle materie prime di base;
- 2) gruppo TRT35, alimentato con la dieta CO integrata con 21,8 g/d di Arg per i primi 35 giorni di gestazione;
- 3) gruppo TRT45, alimentato con la dieta CO integrata con 21,8 g/d di Arg per gli ultimi 45 giorni di gestazione;
- 4) gruppo TRTCOM, alimentato con la dieta CO integrata con 21,8 g/d di Arg per tutta la gestazione.

Per la prova non sono state impiegate scrofe primipare. La dose di Arg è il risultato di una meta-analisi condotta dal gruppo di ricerca del professor Trevisi (Viridis et al., 2023). Dopo una ricerca sui principali motori di ricerca scientifici (Scopus, PubMed, eccetera) ed un'accurata selezione, sono stati scelti 19 articoli scientifici pubblicati dal 2007 al 2021. È stato quindi costruito il dataset, uniformando i dati raccolti comprese le diete che sono state ricalcolate tramite il software EvaPig®. Utilizzando poi il software RStudio sono state condotte le analisi statistiche, utilizzando sia un modello lineare che un modello quadratico ed è stata definita la dose di Arg in grado di massimizzare le performance al parto della scrofa.

Al fine di somministrare la dose adeguata di Arg, è stata prodotta una pre-miscela (**Figura 1**) la cui composizione è riportata in **Tabella 4**. La pre-miscela aveva una concentrazione in Arg pari a 217.820 mg/kg che ha permesso di somministrare la dose di Arg definita di 21.8 g con una singola calata di 100g in mangiatoia.

Nel reparto gestazione, le scrofe sono state collocate nei box muniti di tramoggia micro-dosatrice. La pre-miscela di Arg veniva caricata manualmente all'interno delle tramogge e, alla 4^a calata di mangime, ne veniva rilasciata sul piatto una dose di 100 g/giorno/scrofa. Questo sistema di dosaggio automatico, ha permesso di poter ospitare all'interno di uno stesso box, scrofe assegnate ai quattro gruppi sperimentali, con il vantaggio di ridurre l'effetto attribuito al box in fase di analisi statistica. La sala parto disponeva di 10 o 50 gabbie parto dotate di mangiatoie servite da condotti numerati e indipendenti. Una volta spostate le scrofe in sala parto, il numero dei condotti delle scrofe appartenenti ai gruppi TRT45 e TRTCOM veniva registrato e da PC veniva impostato il rilascio della pre-miscela di Arg prelevato dai micro-dosatori del sistema Spotmix®. Al momento del parto, la somministrazione della pre-miscela era interrotta modificando le impostazioni da PC.

Rilevamenti e campionamenti

Le scrofe sono state pesate all'ingresso (d0) e all'uscita (d106±4) dalla sala gestazione. In questo modo è stato possibile calcolare l'incremento ponderale giornaliero (IPG). Al giorno 35 (d35) dall'ingresso in sala gestazione, sono stati raccolti 211 campioni di feci. Subito dopo lo spostamento

delle scrofe in sala parto (d106±4), sono stati raccolti 194 campioni di feci per valutare se l'integrazione in Arg potesse modificare il profilo microbico intestinale delle scrofe. I campioni di feci sono stati immediatamente congelati in azoto liquido (-196°C) per preservare l'integrità e la qualità del DNA microbico. In seguito, i campioni sono stati stoccati ad una temperatura di -80°C fino al momento dell'analisi in laboratorio. Sono stati poi selezionati 128 campioni di feci (64 per ogni timepoint, 8 scrofe/gruppo) per l'analisi del microbiota. Sui 64 campioni del d106, sono state inoltre condotte le analisi sugli acidi grassi volatili (AGV) e sulla concentrazione di ammoniaca (NH³). Inoltre, su 14 campioni di feci del d35 e su 48 campioni del d106 sono state condotte le analisi di metabolomica al fine di verificare se la somministrazione di Arg avesse modificato la salute intestinale delle scrofe.

In prossimità del parto, sono stati raccolti 114 campioni di colostro utili per valutare l'effetto dell'Arg sulla composizione nutrizionale e sulla concentrazione in immunoglobuline (Ig) A, IgG e IgM. I campioni di colostro sono stati raccolti a partire dalla nascita del primo suinetto e comunque entro 2 ore dall'inizio del parto. Il campionamento del colostro è stato eseguito tramite mungitura manuale delle mammelle e solo quando la scrofa allattava, in modo da ridurre al minimo lo stress (**Figura 2**). Per assicurare un campione quanto più omogeneo e rappresentativo possibile, il colostro è stato raccolto da tutte i capezzoli, fino al raggiungimento di 35-40 ml per campione, da cui sono state separate 2 aliquote da 1.5 ml conservate immediatamente in azoto liquido ed in seguito stoccate a -80°C fino al momento delle analisi. Il restante campione di circa 30 ml è stato invece conservato in frigo ad una temperatura di circa +8°C, la sua composizione è stata analizzata entro 48 ore dalla raccolta.

In **Tabella 5** sono riportate le numerosità dei campioni di feci e colostro raccolti ad ogni ciclo e per ognuno dei gruppi.

Al parto è stato registrato il numero ed il peso di tutti i suinetti nati, categorizzati nelle seguenti categorie: nati totali, nati vivi, poco vitali, nati morti, schiacciati e mummificati. I suinetti con un peso inferiore ad 1kg di peso vivo sono stati categorizzati come sottopeso, i suinetti con un peso compreso tra 1-1.7kg sono stati categorizzati come normopeso, mentre i suinetti con peso alla nascita superiore a 1.7kg sono stati categorizzati come alto peso. Le categorie di peso sono state poi espresse come percentuali all'interno di ogni nidiata. Inoltre, il numero di suinetti nati morti e di mummificati è stato espresso come percentuale sul numero di nati totali; il numero di suinetti schiacciati ed i poco vitali è stato espresso come percentuale sul numero di nati vivi.

I suinetti sono stati marcati tramite marca auricolare numerata e di colore diverso in base al gruppo di appartenenza della scrofa (CO, bianco; TRT35, blu; TRT45, rosso; TRTCOM, verde - **Figura 3a e 3b**). I suinetti sono stati poi pesati nuovamente al giorno 6 di vita, allo svezzamento (±28) e 14 giorni dopo l'accasamento al Sito 2 (d14p). Al Sito 2 sono stati rilevati i parametri ambientali quali l'intensità luminosa tramite luxometro e la concentrazione di O₂, CO₂, CO, H₂S, NH₃, CH₄ nell'aria con l'ausilio

di un Dräger X-AM 8000; inoltre, sono state osservate le lesioni a livello della coda e delle orecchie utilizzando il punteggio definito dal protocollo Welfare Quality®.

Analisi su composizione e immunoglobuline colostro

Le analisi sulla composizione del colostro sono state eseguite su 103 campioni. I campioni sono stati diluiti 1:2 con acqua ed analizzati tramite Milkoscan FT2.

Le analisi delle IgA, IgM e IgG sono state effettuate tramite il test immunoenzimatico ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) utilizzando gli anticorpi suino-specifici goat anti-pig IgA/IgM/IgG-affinity purified e goat anti-pig IgA/IgM/IgG HRP conjugate (BETHYL Laboratories, Montgomery, TX) ed il Pig Immunoglobulin Reference Serum RS107-4 (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 µg/ml, sono stati calcolati usando una curva parametrica a quattro punti. I campioni di colostro sono stati precedentemente sgrassati seguendo la procedura descritta da Luise et al. (2020) ed in seguito diluiti 1:50 000 per l'analisi delle IgA, 1:10 000 per l'analisi delle IgM e 1:500 000 per l'analisi delle IgG.

Analisi sugli acidi grassi volatili, ammoniacale e profilo metabolomico delle feci

Su un totale di 64 campioni di feci di scrofa al d106 sono state condotte le analisi sugli AGV (lattato, acetato, propionato, iso-butirrato, butirrato, iso-valerico e valerico). Il protocollo utilizzato è quello descritto da Luise et al. (2023) nel quale venivano usati 5 ml di una soluzione acquosa di H₂SO₄ 0.1 N per diluire 1 g di feci.

Su un totale di 64 campioni di feci di scrofa al d106 sono state condotte le analisi sulla concentrazione di ammoniacale. È stato utilizzato un kit commerciale (Urea/BUN – Color; BioSystems S.A., Barcelona, Spain).

Su un totale di 14 campioni di feci al d35 e 48 campioni di feci al d106 sono state condotte le analisi metabolomiche mediante spettroscopia NMR. Il protocollo di preparazione dei campioni nonché la metodica utilizzati sono descritti nell'articolo di Brugaletta et al. (2022).

Estrazione del DNA batterico e sequenziamento

Il DNA batterico totale è stato estratto dai campioni fecali raccolti 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 della scrofa attraverso sequenziamento delle regioni V3-V4 del gene 16S rRNA su piattaforma Illumina Miseq.

Per questa analisi sono state selezionate le feci di 16 scrofe per gruppo; sono state scelte le scrofe delle quali erano state campionate le feci in entrambi i time point (d35 e d106).

Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando Rstudio v4.3 (RStudio, PBC, Boston, MA) utilizzando i pacchetti *jmv* (Selker et al., 2022), *car* (Fox and Weisberg, 2019), *emmeans* (Lenth, 2023), *lme4* (Bates et al., 2015). Nel modello statistico sono stati inclusi come fattori la dieta sperimentale, il ciclo, la categoria di parto della scrofa, l'età dell'animale al momento della pesata, la numerosità sotto scrofa e il peso del suinetto del time point precedente. La scrofa è stata inclusa come fattore random. È stata inoltre testata l'eventuale interazione tra la dieta e il ciclo. Quando l'interazione tra la dieta ed il ciclo risultava significativa, le analisi venivano svolte considerando i dati dei due cicli separatamente. Sono stati esclusi dalla prova tutti i suinetti che, per motivi manageriali, sono stati spostati in nidi appartenenti ad un gruppo diverso rispetto a quello di origine.

Analisi bioinformatiche microbiota e metaboloma delle feci

Per l'analisi di 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 v4.3, utilizzando i pacchetti *PhyloSeq* (McMurdie and Holmes, 2013), *Vegan* (Dixon, 2003), *lme4* (Bates et al., 2015).

Per quanto riguarda l'analisi statistica dei dati metabolomici, in primo luogo, i set di dati sono stati analizzati con un approccio multivariato utilizzando MetaboAnalyst 6.0 (Xia et al., 2014), quindi i metaboliti sono stati analizzati utilizzando un modello ANOVA su RStudio v4.3 (RStudio, PBC, Boston, MA). Per l'approccio multivariato, i dati sono stati normalizzati e trasformati in log. Dopo la normalizzazione, i dati sono stati analizzati con l'approccio Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) e sono stati determinati i punteggi VIP (variable importance projection) per dieta e la stagione. Per le analisi univariate, i dati sono stati adattati con un modello misto lineare che includeva la dieta e la stagione come fattori fissi.

Risultati

Performance riproduttive delle scrofe al parto

In **Tabella 6** sono riportati i risultati relativi alle performance di crescita delle scrofe. All'ingresso in sala gestazione (d0) non vi erano differenze significative per il peso medio delle scrofe nei diversi gruppi. Questo risultato conferma un corretto bilanciamento dei gruppi all'inizio della prova. Il peso medio al d0 è risultato comunque essere influenzato dal ciclo e dalla categoria di parto. In particolare, il peso medio era maggiore nel ciclo II ($p < 0.001$), nella categoria old rispetto alle

categorie mid ($p=0.002$) e young ($p<0.001$) e nella categoria mid rispetto alla young ($p<0.001$). Per quanto riguarda il peso della scrofa all'ingresso in sala parto (d106), il gruppo TRTCOM ha mostrato un peso maggiore rispetto al gruppo CO ($p=0.003$). Sono stati inclusi nel modello e sono risultati statisticamente significativi anche il peso della scrofa all'ingresso in sala gestazione ($p<0.001$) e la numerosità della nidiata al parto ($p=0.002$). Sono risultati significativi anche il ciclo, con un peso maggiore durante il ciclo I ($p<0.001$) e la categoria di parto, in cui la categoria mid tendeva ad avere un peso medio inferiore rispetto alla categoria young ($p=0.008$).

L'IPG, è risultato maggiore nel gruppo TRTCOM rispetto al gruppo CO ($p=0.04$) e più alto nel ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$). Infine, la categoria young, ha mostrato un IPG maggiore rispetto alle altre due categorie ($p<0.001$).

In **Tabella 7** sono riportati i risultati relativi alle performance della nidiata al parto. Il numero totale di suinetti nati e di nati vivi non è stato influenzato dalla dieta. Il numero di nati totali è stato maggiore durante il ciclo II rispetto al ciclo I ($p=0.003$) ed è risultato inferiore nella categoria young se confrontata con la categoria old ($p=0.002$) o con la categoria mid ($p<0.001$). Il numero di nati vivi è risultato maggiore nella categoria mid rispetto alla old ($p=0.028$) e alla young ($p=0.022$). La percentuale di nati morti è risultata più alta nel gruppo di CO rispetto ai gruppi TRT35 ($p<0.001$) e TRT45 ($p=0.029$) e inferiore nel gruppo TRT35 rispetto al gruppo TRTCOM ($p=0.004$). Inoltre, questa percentuale è risultata tendenzialmente minore durante il ciclo II rispetto al ciclo I ($p=0.081$). La percentuale di nati morti è risultata inferiore nella categoria young rispetto alla old ($p<0.001$) e rispetto alla mid ($p<0.001$) e nella mid rispetto alla old ($p<0.001$). La percentuale di suinetti schiacciati alla nascita è risultata maggiore nel gruppo TRTCOM rispetto a tutti gli altri gruppi ($p<0.001$) ed è risultata maggiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$). La percentuale di suinetti poco vitali è risultata invece maggiore nei gruppi TRTCOM e TRT45 se confrontati con il gruppo CO ($p<0.001$), mentre il gruppo TRT35 tendeva ad avere una percentuale maggiore rispetto al gruppo CO ($p=0.056$). Questa percentuale, inoltre, è risultata minore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$) e maggiore nella categoria old rispetto alla mid ($p=0.012$) o alla young ($p<0.001$). La percentuale di suinetti mummificati è risultata maggiore nel gruppo TRTCOM se confrontato col gruppo TRT35 ($p=0.002$) o con il gruppo TRT45 ($p=0.049$) mentre non sono state evidenziate differenze tra i gruppi che hanno ricevuto l' Arg e il gruppo CO. Durante il ciclo I la percentuale di mummificati è risultata inferiore rispetto al ciclo II ($p<0.001$).

In **Tabella 8** sono riportati i risultati riguardanti le performance della nidiata al parto in termini di peso. Durante il ciclo I, il peso medio dei suinetti alla nascita ($p=0.055$) e il coefficiente di variazione (CV) del peso medio della nidiata totale ($p=0.087$) tendevano ad essere inferiori rispetto al ciclo II. Lo stesso andamento è stato osservato per il peso medio della nidiata totale che tendeva ad essere inferiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.094$). Mentre il peso medio della nidiata non è stato influenzato dalla dieta. Il CV del peso medio della nidiata totale è risultato essere più alto nella

categoria old rispetto alla categoria young ($p=0.027$), mentre il peso medio della nidiata totale tendeva ad essere maggiore nella categoria young rispetto alla categoria old ($p=0.071$). Il peso medio e il CV del peso medio dei suinetti nati vivi non sono stati influenzati dalla dieta. Il peso medio dei nati vivi è risultato essere inferiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.007$), così come il peso medio della dei soli nati vivi ($p=0.065$). Infine, il peso medio delle nidiata, tenendo conto solo dei suinetti vivi, era maggiore nella categoria young rispetto alla old ($p=0.002$). La percentuale di suinetti con un basso peso alla nascita era inferiore nel gruppo TRT35 rispetto al gruppo TRT45 ($p<0.001$), al gruppo TRTCOM ($p<0.001$) e al gruppo CO ($p=0.02$). Inoltre, il gruppo CO ha mostrato una percentuale di suinetti con basso peso alla nascita inferiore rispetto al gruppo TRT45 ($p=0.05$) e al gruppo TRTCOM ($p<0.001$). La percentuale di suinetti sottopeso era maggiore durante il ciclo I ($p<0.001$). La percentuale di suinetti normopeso non è stata influenzata dalla dieta, dal ciclo o dalla categoria di parto delle scrofe. La percentuale di suinetti con alto peso alla nascita era maggiore nel gruppo TRT45 rispetto ai gruppi CO e TRTCOM ($p<0.001$) e al gruppo TRT35 ($p=0.042$). Inoltre, questa percentuale era maggiore nel gruppo TRT35 rispetto al TRTCOM ($p=0.046$) ed inferiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$). La percentuale di suinetti con alto peso alla nascita era maggiore nella categoria young rispetto alle altre due categorie ($p<0.001$).

Composizione colostro

In **Tabella 9** sono riportati i risultati sulla composizione del colostro e sulla concentrazione delle Ig. La dieta non ha influenzato la composizione del colostro. La percentuale di grasso è risultata maggiore nella categoria old rispetto alla mid ($p=0.044$) e alla categoria young ($p=0.022$). La percentuale in lattosio era inferiore durante il ciclo I ($p=0.002$). La concentrazione di IgM e di IgA non è stata influenzata dalla dieta, mentre la concentrazione di IgG è risultata maggiore nel gruppo CO rispetto a tutti gli altri gruppi sperimentali ($p<0.001$). La concentrazione di IgM e IgA non è stata influenzata dal ciclo mentre la concentrazione di IgG era maggiore durante il ciclo I ($p<0.001$). Infine, la categoria di parto ha influenzato la concentrazione di IgG. In particolare, il colostro delle scrofe appartenenti alla categoria old aveva una concentrazione in IgG inferiore rispetto a quello della categoria mid ($p=0.039$) e a quello della categoria young ($p<0.001$).

Performance di crescita dei suinetti dalla nascita al post-svezzamento

In **Tabella 10** sono riportati i risultati sulle performance di crescita dei suinetti dalla nascita al d14p. La dieta non ha influenzato le performance di crescita dei suinetti né in termini di peso, né in termini di IPG, ad eccezione dell'IPG d0p-d14p in cui l'interazione tra dieta e ciclo mostra una tendenza ($p=0.07$): il gruppo TRT45 aveva una IPG maggiore rispetto al CO ($p=0.033$), mentre l'IPG era minore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$). Inoltre, l'interazione è risultata significativa per il peso al d28 ($p=0.035$), che è risultato inferiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p<0.001$) e inferiore

nella categoria old rispetto alle altre due categorie ($p < 0.001$). Il peso al d14p era inferiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p < 0.001$) e maggiore nella categoria young se confrontata con la categoria mid ($p < 0.001$) e la categoria old ($p = 0.008$). Durante il ciclo I, sia l'IPG d0-d28 che l'IPG d28-d14p sono risultati essere inferiori rispetto al ciclo II ($p = 0.006$ e $p < 0.001$, rispettivamente).

La mortalità e il tasso di esclusione dei suinetti in base alla dieta sono riportati in **Figura 4**. A d3, la mortalità e il tasso di esclusione erano più alti nel gruppo TRTCOM rispetto al gruppo CO ($p = 0.020$) e al gruppo TRT45 ($p = 0.027$). A d6, la mortalità e il tasso di esclusione erano più alti nei gruppi TRTCOM e TRT35 rispetto al gruppo CO ($p < 0.001$ e $p = 0.009$, rispettivamente) e tendevano a essere più alti nel gruppo TRTCOM rispetto al gruppo TRT45 ($p = 0.055$). Allo svezzamento (d26), il gruppo TRTCOM aveva un tasso di mortalità e di esclusione più elevato rispetto al gruppo CO ($p = 0.010$) e al gruppo TRT45 ($p = 0.033$) e tendeva a essere più elevato rispetto al gruppo TRT35 ($p = 0.070$). A d14pw, il gruppo TRTCOM aveva un tasso di mortalità e di esclusione più elevato rispetto al gruppo TRT45 ($p = 0.028$). Considerando la stagione, la mortalità e il tasso di esclusione erano più alti durante la stagione calda a d6 ($p < 0.001$), d26 ($p < 0.001$) e d14p ($p < 0.001$) (dati non mostrati).

Salute intestinale delle scrofe e concentrazione di ammoniaca fecale

In **Tabella 11** sono riportati i risultati relativi al contenuto di ammoniaca e AGV nelle feci al d106. In particolare, nessuno dei parametri testati è stato influenzato dalla dieta, ad eccezione dell'acido isobutirrico che risulta essere maggiore nel gruppo TRT35 rispetto agli altri ($p = 0.024$) ed inferiore nella categoria di parto young rispetto alla old ($p = 0.038$) e alla mid ($p = 0.012$). L'acido lattico è risultato maggiore nella categoria di parto young rispetto alla old ($p = 0.001$) e alla mid ($p = 0.002$). La concentrazione di acido propionico è risultata maggiore durante il ciclo II ($p = 0.007$). L'acido butirrico tendeva ad essere maggiore nella categoria di parto mid rispetto alla young ($p = 0.052$). Per quanto riguarda infine l'acido isovalerico, questo è risultato maggiore durante il ciclo I ($p = 0.035$) e nella categoria young rispetto alla mid ($p = 0.014$).

Un totale di 59 metaboliti è stato identificato nelle feci delle scrofe al d35. Per investigare le differenze in termini di composizione metabolomica tra il gruppo CO (CO + TRT45) e il gruppo ARG (TRT35+TRTCOM) è stata condotta una PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis). Le componenti principali (PC) 1, PC2, PC3 e PC4 hanno spiegato rispettivamente il 27.4%, 22.0%, 9.5% e 9.2% del modello (**Figura 5**). Nonostante i gruppi siano leggermente sovrapposti, è possibile osservare una separazione a livello della PC1 (**Figura 5A**). I metaboliti che influenzano maggiormente questa separazione sono stati identificati tramite il punteggio VIP (detto VIP score, Variable Importance in Projection) in PC1 (**Figura 5C**) e PC2 (**Figura 5D**). Il gruppo CO era caratterizzato da un alto punteggio per l'acetato (PC1: VIP score = 1.38), 3-idrossibutirato (PC2: VIP score = 1.49) e fumarato (PC2: VIP score = 1.40). Il gruppo ARG ha mostrato un alto punteggio per il metanolo (PC1: VIP score = 3.19; PC2: VIP score = 2.63), l'aspartato (PC1: VIP score = 2.08; PC2: VIP score = 1.56), la

treonina (PC1: VIP score = 2.01; PC2: VIP score = 1.58), il mio-inositolo (PC1: VIP score = 1.81; PC2: VIP score = 1.38), la betaina (PC1:VIP score = 1.80; PC2: VIP score = 1.67) e il 2-metil-3-ketoveralato (PC1: VIP score = 1.57).

In **Tabella 12** sono riportati i metaboliti identificati al d35, le relative concentrazioni e l'effetto della dieta e della stagione secondo quanto ottenuto dal modello statistico univariato. Il gruppo CO ha riportato maggiori concentrazioni di uracile ($p=0.004$) e galattosio ($p=0.028$), mentre il gruppo ARG ha mostrato maggiore concentrazione di metanolo ($p=0.025$) e tendeva ad avere maggiore concentrazione di 2-oxoisocaproato ($p=0.071$).

Un totale di 61 metaboliti è stato identificato nelle feci delle scrofe al d106. La PLS-DA non ha evidenziato nessun effetto della dieta sul metaboloma fecale della scrofa in questo time point (**Figura 6**), risultato confermato anche dall'analisi statistica ANOVA (**Tabella 13**).

Profilo microbico fecale delle scrofe

In **Figure 7a e 7b** sono riportati i risultati sul profilo microbico delle scrofe gestanti. L'alpha diversità non è stata influenzata dalla dieta né al d35 né al d106; inoltre, non sono state osservate differenze per gli indici di Chao1, Shannon e InvSimpson, dovute alla dieta. Al d35, l'indice InvSimpson era più alto durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.001$). Al d106, l'indice Shannon tendeva ad essere influenzato dalla categoria di parto ($p=0.067$) e, anche se tra i pairwise non sono emersi risultati significativi, la media della categoria young risulta essere più alta rispetto alle medie delle altre due categorie di parto. L'indice InvSimpson al d106 tendeva ad essere più alto durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.085$) e tendeva ad essere influenzato dalla categoria di parto ($p=0.082$): anche se i pairwise tra i gruppi non hanno mostrato risultati significativi, la media della categoria di parto young è risultata più alta rispetto alle altre due. Per quanto riguarda la Beta diversità (**Figura 8**): al d35 questa tendeva ad essere influenzata dalla dieta ($R^2=0.069$; $p=0.064$), era influenzata dal ciclo ($R^2=0.061$; $p=0.002$) e tendeva ad essere influenzata dalla categoria di parto ($R^2=0.048$; $p=0.097$); al d106 non è stata influenzata dalla dieta, ma è stata condizionata dal ciclo ($R^2= 0.104$, $p<0.001$) e dalla categoria di parto ($R^2=0.047$; $p=0.015$).

Per quanto riguarda le analisi dei taxa caratterizzanti i diversi gruppi (LefSE) al d35 e al d106, non sono state osservate differenze tra i gruppi sperimentali o le categorie di parto, mentre sono state evidenziate delle differenze tra i due cicli.

Discussione

Questo studio ha messo in evidenza i diversi effetti dell'aggiunta di Arg sulla performance riproduttiva delle scrofe. L'interazione tra la dieta e la stagione non è mai stata significativa, tranne che per alcune tendenze nella crescita della nidiata. Questo risultato ci porta a discutere principalmente i risultati ottenuti dall'integrazione di Arg indipendentemente dalla stagione, suggerendo che la dose di Arg utilizzata non è stata in grado di alleviare lo stress da caldo nelle scrofe.

In termini di performance produttiva, i risultati hanno suggerito un effetto diverso dell'Arg a seconda del periodo di integrazione.

L'effetto positivo dell'Arg nella fase iniziale della gestazione è ampiamente dimostrato in letteratura (Berard et al., 2010; Li et al., 2015). Questo studio conferma il potenziale interesse e il ruolo centrale dell'Arg nella fase iniziale della gestazione. Infatti, sebbene il numero totale di nati e di nati vivi non sia aumentato nel gruppo TRT35, la percentuale di suinetti nati morti e mummificati si è ridotta rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, il gruppo TRT35 ha registrato una percentuale inferiore di suinetti nati morti rispetto a tutti gli altri gruppi. Poiché la letteratura riporta un tasso più elevato di mortalità fetale nei giorni 12-15 e 30 di Ford et al. (2002), questi effetti positivi potrebbero essere attribuiti al miglioramento dell'angiogenesi placentare e dell'impianto fetale ottenuto grazie all'uso di Arg (Li et al., 2014) nei primi 35 giorni di gestazione. La mancanza di effetto dell'ARG nel gruppo TRT35 nel migliorare il numero di nati totali, i nati vivi e il loro peso corporeo è in accordo con i risultati di Li et al. (2014) il cui studio ha rilevato che una dose totale di 48,61 g/d di Arg durante i primi 30 giorni di gestazione non ha influenzato le dimensioni della nidiata ed il peso corporeo alla nascita. Nel presente studio, sebbene l'Arg nei primi 35 giorni non abbia portato a un aumento del peso corporeo dei suinetti, ha ridotto la percentuale di suinetti LBW, un problema emergente per le scrofe ad alta prolificità, poiché sono più deboli degli NBW e subiscono un tasso di mortalità più elevato o una crescita più lenta durante l'allattamento e il periodo successivo allo svezzamento (Trevisi et al., 2023).

Per quanto riguarda gli effetti dell'uso di Arg negli ultimi 45 giorni di gestazione, questa ha ridotto il numero di suinetti nati morti e ha aumentato la percentuale di HBW; i presenti risultati sono in accordo con i risultati di Nuntapaitoon et al. (2018) nel cui studio avevano testato l'effetto dell'impegno di 46,75 g/d di Arg complessivi durante la tarda gestazione (da d85 fino al parto). Questi effetti possono essere attribuiti al ruolo dell'Arg nella regolazione del flusso sanguigno placentare-fetale, migliorando il trasferimento di nutrienti e ossigeno ai feti attraverso il cordone ombelicale (Hsu et al., 2019). La vascolarizzazione placentare raggiunge quasi il picco entro il 70° giorno di gestazione (Wu et al., 2005) e i feti crescono rapidamente, con circa il 60% della loro crescita che avviene durante l'ultimo terzo di gestazione (Wu et al., 2017). Pertanto, l'aumento del flusso sanguigno placentare-fetale dovuto all'integrazione di Arg in quest'ultimo periodo potrebbe aver contribuito a una migliore crescita dei feti. Inoltre, durante la tarda gestazione lo sviluppo del muscolo del feto è caratterizzato principalmente dall'ipertrofia (Rodrigues et al. 2021). Questo processo è regolato dalla via mTOR ed è facilitato dal fattore di crescita 1 insulino-simile. Come affermato da Takahara et al. (2020), è noto che l'Arg attiva potentemente l'mTOR. Tuttavia, i risultati attuali suggeriscono che il miglioramento del trasferimento di nutrienti e ossigeno derivante dall'Arg non è stato equamente distribuito tra i feti, poiché non è stato osservato un aumento generale del peso alla nascita, ma piuttosto un aumento della percentuale di suini con un HBW. La mancanza di un aumento generale del peso alla nascita dei suinetti nel gruppo TRT45 è in contrasto con gli studi

precedenti di Hong et al. (2020) e Wu et al. (2012), che hanno somministrato alle scrofe una dose totale di 39,56 g/d e 33,4 g/d di Arg, rispettivamente. Tuttavia, concorda con lo studio condotto da Bass et al. (2017), che ha somministrato un totale di 42,5 g/d di Arg. Queste discrepanze in termini di effetti dell'Arg potrebbero essere dovute alla composizione della dieta di base, alla gestione dell'allevamento o alla genetica delle scrofe coinvolte negli studi.

Gli effetti previsti dell'integrazione di Arg sulle scrofe durante l'intera gestazione, come l'aumento delle dimensioni della nidiata e del peso alla nascita, si basavano su studi come quelli di Gao et al. (2012) e Silva Fonseca et al. (2022). Gli autori avevano infatti evidenziato degli effetti positivi avevano utilizzato rispettivamente 34,2 g/dal 22° all'89° giorno di gestazione e di 51,3 g/d dal 90° giorno al parto (Gao et al., 2012) e 43,7 g/d di Arg tra i giorni 30-60 e 80-114 di gestazione (Silva Fonseca et al., 2022). I risultati ottenuti nel presente studio sono in disaccordo con questi studi. Infatti, il gruppo che ha ricevuto l'Arg durante l'intero periodo di gestazione non ha mostrato un aumento del numero totale di suinetti nati e vivi né un aumento del peso corporeo alla nascita dei suinetti. Inoltre, abbiamo osservato un aumento delle percentuali di suinetti LBW e schiacciati nonché un aumento della mortalità ed esclusione dei suinetti durante il periodo di lattazione. I suinetti LBW sono più deboli di quelli di peso normale alla nascita e hanno una capacità di termoregolazione inadeguata (Škorput et al., 2019). Per questo motivo, è più probabile che vengano schiacciati dalla madre, aumentando la mortalità pre-svezzamento (Le Dividich et al., 2017; Spörri-Vontobel et al., 2023). Inoltre, il gruppo TRTCOM presentava un numero numericamente più elevato di suinetti vivi alla nascita, che può essere parzialmente correlato alla maggiore percentuale di suinetti schiacciati. Inoltre, questo aumento numerico di suinetti vivi può in parte giustificare l'aumento di ADG e BW delle scrofe a d106 osservato nel gruppo COM. Questo risultato contrasta con i risultati di Mateo et al. (2008), dove una dose totale di 29,4 g/d di Arg somministrata alle scrofe non ha mostrato alcun effetto sul loro peso corporeo. Tuttavia, la dose dello studio di Mateo et al. (2008) era inferiore alla dose totale di 38,3 g/d utilizzata nel presente studio.

Ad eccezione di una ADG più elevata dalla nascita a 14 giorni dopo lo svezzamento nel gruppo TRT45 e solo durante la stagione calda, la crescita dei suinetti non è stata influenzata dalla dieta delle scrofe. Analogamente alla ADG, la dieta delle scrofe non ha mostrato alcun effetto positivo sulla mortalità e sul tasso di esclusione. Questi risultati sono coerenti con la meta-analisi che abbiamo pubblicato lo scorso anno sugli effetti dell'integrazione di Arg nelle scrofe in gestazione (Viridis et al., 2023). L'Arg viene rapidamente metabolizzato in diverse vie (Morris et al., 2006) e questo potrebbe spiegare perché è difficile osservare un effetto residuo durante la lattazione quando l'integrazione avviene solo durante il periodo di gestazione. Inoltre, considerando l'assenza di effetti significativi dell'integrazione di Arg sulla composizione del colostro, non ci si aspettava alcuna differenza nelle prestazioni di crescita o nella mortalità dei suinetti durante il periodo di allattamento. La mancanza di un effetto significativo dell'Arg nella composizione del colostro delle scrofe concorda con i risultati di Hong et al. (2020) (39,56 g/d di Arg totale). Inaspettatamente, nel presente studio, l'integrazione

di Arg ha portato a una riduzione della concentrazione colostrale di IgG, contrariamente a quanto osservato da Nuntapaitoon et al. (2018). Anche se non è stata valutata la resa del colostro, questa riduzione potrebbe essere associata ad un aumento della produzione di colostro avvenuto grazie all'integrazione con Arg (Krogh et al., 2018).

L'integrazione di Arg può avere effetti sulla fisiologia e sul metabolismo delle scrofe, nonché sul profilo microbico, con possibili ripercussioni anche sullo sviluppo e salute delle nidiate, pertanto nel presente studio sono stati analizzati metabolici, acidi grassi e quantità di ammoniaca fecali nonché il profilo microbico. Il profilo metabolomico fecale, soprattutto al 35° giorno di gestazione, è stato influenzato dalla somministrazione di Arg. In particolare, nei gruppi con Arg è stato osservato un aumento degli AAs fecali, soprattutto aspartato, treonina, tirosina, serina e fenilalanina. Questo aumento di diversi AA fecali potrebbe essere legato alla maggiore disponibilità di NO derivato dall'Arg e al suo effetto su alcuni microrganismi. Infatti, l'NO è noto per alterare il metabolismo dei batteri (Han et al., 2009). La riduzione dell'attività microbica potrebbe quindi aver ridotto il catabolismo degli AA nel lume intestinale, giustificando la maggiore concentrazione di AA fecali, come suggerito da He et al. (2009). Questo effetto sugli AAs, chiaramente osservato al 35° giorno, non ha mantenuto la sua chiarezza fino al 106° giorno. Questo risultato, apparentemente controverso, potrebbe essere dovuto alla capacità del microbiota intestinale di modellare il proprio metabolismo e adattarsi alla dieta in base alla propria capacità evolutiva (Quercia et al., 2014). In alternativa, è altrettanto possibile che le diverse situazioni fisiologiche della scrofa tra il 35° e il 106° giorno di gestazione possano aver contribuito alla diversità osservata nel metaboloma fecale nei due momenti. Inoltre, sebbene il profilo degli AAs fecali non sia stato influenzato al d106, il gruppo che ha ricevuto l'Arg durante l'intera gestazione presentava una concentrazione di ammoniaca fecale più elevata al giorno 106, suggerendo un aumento della perdita di azoto dovuta all'elevata integrazione di Arg. Per quanto riguarda invece i risultati ottenuti sulla concentrazione di SCFA, sono stati osservati degli effetti peculiari per ciascuno dei gruppi dietetici, il che rende difficile trarre una conclusione solida, soprattutto in assenza di qualsiasi effetto sul microbiota fecale da cui derivano. Tuttavia, è possibile osservare che tutti e tre i gruppi con Arg erano caratterizzati da una minore concentrazione di acetato, suggerendo un coinvolgimento dell'Arg nella produzione microbica di questi SCFA o nel loro assorbimento e utilizzo da parte delle scrofe.

In conclusione, la somministrazione di 38.3 g/giorno di Arg per capo, soprattutto quando somministrata nell'ultima fase di gestazione, favorisce la riduzione di suinetti nati morti ed aumenta il numero di suinetti nati con un peso superiore a 1.7 kg. Per contro l'Arg somministrata durante la gestazione non porta ad un miglioramento della qualità del colostro. Questi risultati evidenziano la necessità di approfondire i fabbisogni di Arg nella scrofa gestante, seppure si dovrà valutare con cura se il costo dell'integrazione comporta un reale vantaggio economico per l'allevatore.

Bibliografia

- Amdi C, Krogh U, Flummer C, Oksbjerg N, Hansen CF, Theil PK, 2013. Intrauterine growth restricted piglets defined by their head shape ingest insufficient amounts of colostrum. *J. Anim. Sci.*, 91: 5605-5613. doi: 10.2527/jas.2013-6824
- Bass BE, Bradley CL, Johnson ZB, Zier-Rush CE, Boyd RD, Usry JL, et al. Influence of dietary - arginine supplementation of sows during late pregnancy on piglet birth weight and sow and litter performance during lactation. *J Anim Sci.* 2017;95(1):248-256. doi: 10.2527/jas.2016.0986. PMID: 28177374.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.
- Berard J, Bee G. Effects of dietary l-arginine supplementation to gilts during early gestation on fetal survival, growth and myofiber formation. *Animal.* 2010;4(Issue 10):1680-1687. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000881>
- Brugaletta G, De Cesare A, Laghi L, Manfreda G, Zampiga M, Oliveri C, Pérez-Calvo E, Litta G, Lolli S, Sirri F. A multi-omics approach to elucidate the mechanisms of action of a dietary muramidase administered to broiler chickens. *Sci. Rep.* 2022; 12:5559. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09546-6>
- 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. *Nat Methods.* 2016;13(7):581-3. doi: 10.1038/nmeth.3869.
- Da Silva Fonseca L, Lanferdini E, Moreira RHR, Chaves RF, Perazolli PH, de Paula YH, et al. Arginine supplementation in the feed of gestating sows. *Livestock Sci.* 2022;263:104999. doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104999
- 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>
- EvaPig®, 2020. Created, designed and develop by INRAE, METEX NØØVISTAGO and AFZ. https://en.evapig.com/resources/media/EvaPig_ManualEquations.pdf
- Ford SP, Vonnahme KA, Wilson ME. Uterine capacity in the pig reflects a combination of uterine environment and conceptus genotype effects, *J of Anim Sci.* 2002;80 (Issue E-suppl_1):E66–E73, <https://doi.org/10.2527/animalsci2002.0021881200800ES10010x>
- Fox J, Weisberg S (2019). *An R Companion to Applied Regression*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <<https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>>.

- Foxcroft GR, Dixon WT, Dyck MK, Novak S, Harding JC, Almeida FC. Prenatal programming of postnatal development in the pig. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 2009. 66: 213-31. PMID: 19848290.
- Gao K, Jiang Z, Lin Y, Zheng C, Zhou G, Chen F, et al. Dietary L-arginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. *Amino Acids.* 2012;42(6):2207-14. Doi: 10.1007/s00726-011-0960-9.
- Gardner PR, Martin LA, Hall D, Gardner AM. Dioxygen-dependent metabolism of nitric oxide in mammalian cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2001. 31(2): 191-204. doi: 10.1016/s0891-5849(01)00569-x. PMID: 11440831.
- Han J, Liu YL, Fan W, Chao J, Hou YQ, Yin YL, et al. Dietary L-arginine supplementation alleviates immunosuppression induced by cyclophosphamide in weaned pigs. *Amino Acids.* 2009;37(4):643-51. doi: 10.1007/s00726-008-0184-9. Epub 2008 Sep 28. PMID: 18821052.
- Hasan S, Orro T, Valros A, Junnikkala S, Peltoniemi O, Oliviero C. Factors affecting sow colostrum yield and composition, and their impact on piglet growth and health. *Livestock Sci.* 2019. 227: 60-67. doi:10.1016/j.livsci.2019.07.004.
- He Q, Kong X, Wu G, Ren P, Tang H, Hao F, et al. Metabolomic analysis of the response of growing pigs to dietary L-arginine supplementation. *Amino Acids.* 2009;37(1):199-208. doi: 10.1007/s00726-008-0192-9.
- Hong J, Fang LH, Jeong JH, Kim YY. Effects of L-arginine supplementation during late gestation on reproductive performance, piglet uniformity, blood profiles, and milk composition in high prolific sows. *Animals (Basel).* 2020;10(8):1313. Doi: 10.3390/ani10081313.
- Hsu C-N, Tain Y-L. Impact of Arginine Nutrition and Metabolism during Pregnancy on Offspring Outcomes. *Nutrients.* 2019;11(7):1452. <https://doi.org/10.3390/nu11071452>
- Krogh U, Oksbjerg N, Storm AC, Feyera T, Theil PK. Mammary nutrient uptake in multiparous sows fed supplementary arginine during gestation and lactation. *J. Anim. Sci.* 2017;95:2517–2532. doi: 10.2527/jas2016.1291.
- Le Dividich J, Charneca R, Thomas F. Relationship between birth order, birth weight, colostrum intake, acquisition of passive immunity and pre-weaning mortality of piglets. *Spanish J of Agric Res*, 2017;15(2):e0603. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017152-9921>
- Lenth R (2023). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.8.6, <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>.
- Li J, Xia H, Yao W, Wang T, Li J, Piao X, et al. Effects of arginine supplementation during early gestation (day 1 to 30) on litter size and plasma metabolites in gilts and sows. *J Anim Sci.* 2015;93(11):5291-303. doi: 10.2527/jas.2014-8657. PMID: 26641049.

- Li X, Bazer FW, Johnson GA, Burghardt RC, Frank JW, Dai Z, et al. Dietary supplementation with L-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances embryonic development and survival in gilts. *Amino Acids*. 2014;46(2):375-84. Doi: 10.1007/s00726-013-1626-6.
- Luise D, Picone G, Balzani A, Capozzi F, Bertocchi M, Salvarani C, Bosi P, Edwards S, Trevisi P. Investigation of the Defatted Colostrum 1H-NMR Metabolomics Profile of Gilts and Multiparous Sows and Its Relationship with Litter Performance. *Animals (Basel)*. 2020 Jan 16;10(1):154. doi: 10.3390/ani10010154. PMID: 31963348; PMCID: PMC7022835.
- Luise, D., Correa, F., Stefanelli, C. et al. Productive and physiological implications of top-dress addition of branched-chain amino acids and arginine on lactating sows and offspring. *J Animal Sci Biotechnol* 14, 40 (2023). <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00819-8>
- Mateo RD, Wu G, Moon HK, Carroll JA, Kim SW. Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets. *J. Anim. Sci.*, 2008;86:827-835, 10.2527/jas.2007-0371
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis And Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE* 8, e61217.
- Morris SM Jr. Arginine: beyond protein. *Am J Clin Nutr*. 2006;83:508S-512S. doi:10.1093/ajcn/83.2.508S
- National Reserach Council (NRC) 2012. Nutrient requirements of swine 11th Revised Edition. The National Academies Press, Washington, DC.
- Nuntapaitoon M, Muns R, Theil PK, Tummaruk P. l-arginine supplementation in sow diet during late gestation decrease stillborn piglet, increase piglet birth weight and increase immunoglobulin G concentration in colostrum. *Theriogenology*. 2018;121:27-34. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.08.012.
- Oliviero C, Junnikkala S, Peltoniemi O. The challenge of large litters on the immune system of the sow and the piglets. *Reprod. Domest. Anim*. 2019. 54 Suppl 3:12-21. doi: 10.1111/rda.13463. PMID: 31512316.
- 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.
- Quercia S, Candela M, Giuliani C, Turrone S, Luiselli D, Rampelli S, et al. From lifetime to evolution: timescales of human gut microbiota adaptation. *Front Microbiol*. 2014;5:587. doi: 10.3389/fmicb.2014.00587.
- Rodrigues GA, Júnior DTV, Soares MH, Silva CBD, Fialho FA, Barbosa LMDR, et al. L-arginine supplementation for nulliparous sows during the last third of gestation. *Animals (Basel)*. 2021;11(12):3476. Doi: 10.3390/ani11123476.

- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Selker R, Love J, Dropmann D, Moreno V (2022). jmv: The 'jamovi' Analyses. R package version 2.3.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=jmv>>.
- Škorput D, Dujmović Z, Karolyi D, Luković Z. Variability of birth weight and growth of piglets in highly prolific sows. J. Cent. Eur. Agric. 2019;19:823-828. Doi:10.5513/JCEA01/19.4.2355
- Spörri-Vontobel C, Simmler M, Wechsler B, Scriba MF. Risk factors differ for viable and low viable crushed piglets in free farrowing pens. Front. Vet. Sci. 2023.;10:1172446. Doi : 10.3389/fvets.2023.1172446
- Takahara T, Amemiya Y, Sugiyama R, Maki M, Shibata H. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: a variety of regulatory modes. J Biomed Sci. 2020;27:87. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00679-2>
- Trevisi P, Negrini C, Correa F, Viridis S, Laghi L, Marcello M, et al. Insight into the long-term impact of birth weight on intestinal development, microbial settlement, and the metabolism of weaned piglets. J of Anim Sci, 2023. 101. <https://doi.org/10.1093/jas/skad395>
- Wang W, Degroote J, Van Ginneken C, Van Poucke M, Vergauwen H, Dam TM, Vanrompay D, Peelman LJ, De Smet S, Michiels J. Intrauterine growth restriction in neonatal piglets affects small intestinal mucosal permeability and mRNA expression of redox-sensitive genes. FASEB J. 2016. 30(2): 863-73. doi: 10.1096/fj.15-274779. Epub 2015 Oct 29. PMID: 26514167.
- Wu G, Bazer FW, Hu J, Johnson GA, Spencer TE. Polyamine synthesis from proline in the developing porcine placenta. Biol Reprod. 2005;72(4):842-50. doi: 10.1095/biolreprod.104.036293. PMID: 15576824.
- Wu G, Bazer FW, Johnson GA, Herring C, Seo H, Dai Z, et al. Functional amino acids in the development of the pig placenta. Mol Reprod Dev. 2017;84(9):870-882. doi: 10.1002/mrd.22809.
- Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Amino Acids. 2009. 37:1-17. doi: 10.1007/s00726-009-0269-0. Epub 2009 Mar 20. PMID: 19301095.
- Wu X, Yin YL, Liu YQ, Liu XD, Liu ZQ, Li TJ, et al. Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows. Anim Reprod Sci. 2012;132:187–192. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.05.002
- Xia Lab McGill, 2024. MetaboAnalyst v6.0, www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/home.xhtml

Tabelle e figure

Tabella 1 – Formulazione della dieta base somministrata alle scrofe durante la gestazione e la lattazione.

Ingredienti	Gestazione	Lattazione
	%	
Orzo, %	15.00	15.00
Mais, macinato, %	14.98	11.50
Mais 8% PG, %	10.80	15.00
Triticale, %	10.00	10.00
Frumento, %	10.00	--
Crusca di frumento, %	7.33	3.17
Girasole, FE 35% PG, %	7.00	3.00
Polpe barbabietola, %	6.00	3.00
Sorgo, %	5.00	--
Olio di girasole, %	3.00	1.67
Grasso misto, %	2.00	1.67
Avena, %	1.67	3.17
Soia FE 48% PG, %	1.50	15.10
Melasso di canna da zucchero, %	1.50	2.33
Soia, %	1.33	7.50
Soia, buccette, %	--	1.67
Prodal prodotti, %	--	2.50
Calcio carbonato, %	0.87	0.97
Monocalcio fosfato, %	0.48	0.65
Cloruro di sodio, %	0.47	0.38
Minerali, mix, %	0.40	0.40
Ossido di magnesio, %	--	0.20
Lisina liquida 50%, %	0.39	0.65
Colina liquida 75%, %	0.10	0.13
Treonina, %	0.08	0.16
HiPhosphate, %	0.10	0.10
Metionina, %	--	0.04
Triptofano, %	--	0.02
Vitamina E, %	--	0.02

Tabella 2 – Composizione chimica della dieta base somministrata alla scrofe durante la gestazione o la lattazione.

Composizione chimica	Gestazione	Lattazione
	%	
S. Secca	87.79	87.80
Protidi	12.27	17.97
Lipidi	7.5	6.80
Fibra	5.26	5.01
Ceneri	4.74	5.65
Calcio	0.7006	0.7948
Fosforo	0.4512	0.4978
P.AS.SUS	0.3112	0.3550
NDF	2.422	14.1506
Linoleico	3.0429	2.9498
Amido	41.0527	33.3894
SUGAR T	3.5196	5.0205
NA	0.2211	0.1995
K	0.5734	0.8838
CL	0.3887	0.3601
LYS	0.6243	1.1727
MET	0.2488	0.3458
MET+CYS	0.4799	0.6443
TRP	0.4769	0.7795
THR	0.6876	1.1165
ARG	2.20	4.42
SID Lys, ED/Mcal	3.300	3.363
ED suini kcal t.q.	0.7006	0.7948
EM suini kcal t.q.	0.4512	0.4978
EN suini kcal t.q.	0.3112	0.3550

PSR 2014-2020 regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.1.01

Tabella 3 – Distribuzione delle scrofe tra i gruppi sperimentali in termini di peso corporeo all'inizio della gestazione e di ordine di parto, durante i due cicli.

Paramento	Ciclo								Totale			
	I				II							
Gruppo	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM
Peso corporeo	242.31	242.59	239.73	245.81	246.13	250.45	253.55	247.74	244.24	246.77	246.46	246.97
Ordine di parto	5.08	5.08	4.73	5.23	4.50	4.71	5.00	4.65	4.79	4.89	4.86	4.87
Nr. di scrofe	40	37	40	31	40	42	39	48	80	79	79	79

Tabella 4 – Composizione analitica della pre-miscela contenente Arg.

Composizione analitica	%
Proteina grezza	54.48
Fibra grezza	15.01
Lipidi	3.32
Ceneri	5.18
Lisina	0.15
Metionina	0.06
Sodio	0.01
Arginina	21.78

Tabella 5 – Numero di campioni raccolti per ogni matrice e la distribuzione tra I gruppi e durante i due cicli.

Campioni	I				II				Totale
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	
Feci, d35	8	8	8	8	8	8	8	8	64
Feci, d106	8	8	8	8	8	8	8	8	64
Colostro	12	12	12	12	13	12	12	12	97

Tabella 6 – Performance di crescita delle scrofe durante il periodo di gestazione.

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value		
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta	ciclo	OP
Peso d0, kg	245	249	249	249	2.72	241 ^A	254 ^B	1.94	0.704	<0.001	<0.001
Peso d106, kg	292 ^A	295 ^{AB}	296 ^{AB}	298 ^B	1.46	299 ^B	292 ^A	1.06	0.023	<0.001	0.001
IPG, g/d	445 ^A	470 ^{AB}	486 ^{AB}	503 ^B	15.28	528 ^A	423 ^B	10.9	0.056	<0.001	<0.001

IPG, incremento ponderale giornaliero. OP, categoria di parto. Le scrofe sono state suddivise in 3 categorie sulla base dell'ordine di parto: old (7-8° ordine di parto), mid (4-5-6° ordine di parto), young (2-3° ordine di parto).

Tabella 7 – Performance della scrofa al parto.

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value		
	CO	TRT35	TRT45	TRTCO M	SEM	I	II	SEM	Dieta	Ciclo	OP
Nati totali, n	18.0	17.4	17.7	18.7	0.39	17.3 ^A	18.5 ^B	0.276	0.108	0.003	<0.001
Nati vivi, n	15.5	15.6	15.6	16.3	0.35	15.5	16.0	0.245	0.400	0.106	0.013
Nati morti, %	10.39 ^A	8.11 ^B	9.04 ^B	9.70 ^A	0.33	8.98 ^a	9.57 ^b	0.12	<0.001	0.081	<0.001
Schiacciati, %	1.74 ^A	1.74 ^A	1.82 ^A	3.15 ^B	0.18	2.39 ^A	1.74 ^B	0.11	<0.001	<0.001	0.099
Poco-vitali, %	1.40 ^A	1.91 ^b	2.25 ^{Cb}	2.42 ^{Cb}	0.15	1.40 ^A	2.25 ^B	0.12	<0.001	<0.001	<0.001
Mummificati, %	1.86 ^{AB}	1.43 ^B	1.62 ^B	2.17 ^A	0.15	1.27 ^A	2.40 ^B	0.11	0.002	<0.001	<0.001

OP, categoria di parto. Le scrofe sono state suddivise in 3 categorie sulla base dell'ordine di parto: old (7-8° ordine di parto), mid (4-5-6° ordine di parto), young (2-3° ordine di parto).

Tabella 8 – Performance della nidiata al parto

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value			
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta	Ciclo	OP	nidiata
Peso medio nati totali, g	1366	1375	1366	1319	26.48	1329 ^a	1384 ^b	19.85	0.420	0.054	0.228	<0.001
CV peso medio nati totali, g	22.9	22.4	22.1	23.4	0.963	21.8 ^a	23.6 ^b	0.721	0.740	0.087	0.034	<0.001
Peso medio nidiata totale, g	24177	24073	24278	23287	484	23508 ^a	24399 ^b	362	0.436	0.092	0.077	<0.001
Peso medio nati vivi, g	1411	1411	1406	1351	26.4	1355 ^A	1434 ^B	19.75	0.289	0.006	0.394	<0.001
CV peso medio nati vivi, g	19.1	19.4	19.0	20.0	0.791	19.5	19.2	0.592	0.798	0.745	0.351	<0.001
Peso medio nidiata viva, g	21623	22180	21856	21038	562	21105 ^a	22244 ^b	421	0.518	0.063	0.002	<0.001
Sottopeso al parto, %	10.07 ^B	8.41 ^C	11.70 ^A	12.94 ^A	1.04	12.55 ^A	9.12 ^B	1.17	<0.001	<0.001	0.277	<0.001
Normopeso al parto, %	68.8	64.8	63.5	64.2	2.83	67.1	63.5	2.12	0.529	0.244	0.166	0.030
Alto peso al parto, %	15.96 ^{BC}	16.95 ^B	18.73 ^A	15.03 ^C	1.03	14.30 ^A	19.30 ^B	1.03	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

CV, coefficiente di variazione del peso medio. OP, categoria di parto. Le scrofe sono state suddivise in 3 categorie sulla base dell'ordine di parto: old (7-8° ordine di parto), mid (4-5-6° ordine di parto), young (2-3° ordine di parto). Nidiata indica la dimensione totale della nidiata al parto.

Table 9 – Composizione prossimale del colostro e concentrazione di immunoglobuline

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value				
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta	Ciclo	OP	Peso d106	Peso nidiata d0
Grasso, g/100 ml	4.48	4.77	5.12	4.80	0.27	4.65	4.93	0.2	0.437	0.337	0.012	0.027	<0.001
Proteina, g/100 ml	16.7	16.8	16.7	15.9	0.38	16.4	16.7	0.28	0.304	0.337	0.894	0.844	0.026
Latosio, g/100 ml	2.64	2.60	2.68	2.82	0.1	2.51 ^A	2.86 ^B	0.07	0.368	0.001	0.499	0.677	<0.001
Caseina, g/100 ml	12.1	12.1	12.1	115	0.28	11.7	12.1	0.21	0.328	0.232	0.915	0.834	0.035
Urea, mg/100 ml	135	139	131	134	3.83	136	133	2.85	0.524	0.581	0.474	0.783	0.376
IgG, mg/ml	105.64 ^A	57.97 ^C	83.93 ^B	79.04 ^B	1.02	92.76 ^A	68.72 ^B	1.02	<0.001	<0.001	<0.001	--	--
IgA, mg/ml	7.48	8.28	9.01	7.21	0.88	7.79	8.20	0.76	0.461	0.738	0.249	--	--
IgM, mg/ml	2.23	2.36	2.15	2.28	1.16	2.43	2.09	1.13	0.971	0.425	0.602	--	--

OP, categoria di parto. Le scrofe sono state suddivise in 3 categorie sulla base dell'ordine di parto: old (7-8° ordine di parto), mid (4-5-6° ordine di parto), young (2-3° ordine di parto). Peso al d106, rappresenta il peso della scrofa all'ingresso nella sala parto. Peso nidiata d0, rappresenta il peso complessivo della nidiata al parto.

Tabella 10 – Performance di crescita dei suinetti dalla nascita a 14 giorni post svezzamento (d14p), in termini di peso medio e di IPG.

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value						
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta x ciclo	Dieta	Ciclo	OP	Età	Peso	nidiata
Peso medio d6, g	2438	2446	2485	2450	32.2	2456	2453	23.15	--	0.747	0.937	0.847	<0.001	<0.001	0.099
Peso medio d28, g (I)	6155	5953	6388	6090	158	6146 ^A	6692 ^B	73.2	0.035	0.204	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	0.032
Peso medio d28, g (II)	6778	6904	6537	6548	129										
Peso medio d14p, g	9430	9749	9531	9562	152	9122 ^A	10015 ^B	134	--	0.385	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
IPG d0-d6	147	150	155	144	5.28	145	153	3.82	--	0.502	0.131	--	0.414	--	0.607
IPG d6-d28	226	227	222	218	6.39	216	230	6.58	--	0.567	0.102	--	<0.001	--	0.494
IPG d0-d28	203	206	204	197	5.91	192 ^A	212 ^B	3.04	--	0.403	0.006	--	<0.001	--	0.930
PIPG d28-d14p	172	187	179	177	8.54	151 ^A	207 ^B	7.04	--	0.543	<0.001	--	<0.001	--	--
IPG d0-d14p (I)	162 ^A	180 ^{AB}	190 ^B	173 ^{AB}	9.06	176 ^A	205 ^B	4.81	0.070	0.098	<0.001	--	<0.001	--	--
IPG d0-d14p (II)	208	213	197	201	7.09										

Il peso medio è stato espresso in grammi. l'incremento ponderale giornaliero (IPG) è stato espresso come g/giorno. L'interazione dieta x ciclo è stata rimossa quando non significativa. OP, categoria di parto. Le scrofe sono state suddivise in 3 categorie sulla base dell'ordine di parto: old (7-8° ordine di parto), mid (4-5-6° ordine di parto), young (2-3° ordine di parto). Età indica l'età dell'animale al momento della pesata. Peso indica il peso medio dei suinetti al time point precedente. Nidiata indica la dimensione totale della nidiata al time point precedente il momento della nidiata (esempio, per il peso al d6 è stata considerata la dimensione della nidiata al d0, eccetera).

Tabella 11 – Contenuto in urea e in AGV nelle feci di scrofa al d106 della gestazione

Parametro	Dieta					Ciclo			p-value		
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta	Ciclo	OP
Urea, mmol/g	0.02	0.02	0.02	0.02	0.003	0.018	0.022	0.002	0.346	0.494	0.280
Ac. lattico, mg/g	1.13	0.93	1.62	1.15	0.27	1.04	1.34	0.2	0.269	0.253	<0.001
Ac. acetico, mg/g	16.0	15.4	15.0	14.9	1.66	14.7	15.9	1.18	0.962	0.458	0.140
Ac. propionico, mg/g	5.05	6.04	5.40	7.23	0.75	4.9 ^B	6.96 ^A	0.54	0.177	0.007	0.166
Ac. isobutirrico, mg/g	5.68 ^b	12.04 ^a	6.15 ^b	5.73 ^b	1.74	6.47	8.33	1.25	0.024	0.294	0.005
Ac. butirrico, mg/g	10.48	10.27	7.33	8.70	1.45	9.87	8.52	1.04	0.362	0.363	0.053
Ac. isovalerico, mg/g	1.25	1.05	1.10	1.39	0.13	1.34 ^A	1.05 ^B	0.095	0.260	0.031	0.009
Ac. valerico, mg/g	0.59	0.236	0.491	0.275	0.13	0.43	0.32	0.11	0.316	0.446	0.540

Tabella 12 – Effetto della supplementazione di Arg sul metabolome fecale delle scrofe al d35 di gestazione

Metabolita, $\mu\text{mol/l}$	Dieta		SEM	p-value
	CO	ARG		Dieta
Formate	1.08	1.06	0.47	0.974
Hypoxanthine	2.27	2.12	0.95	0.597
Xanthine	1.88	1.84	0.32	0.940
Phenylalanine	3.06	2.92	0.33	0.776
Phenylacetate	16.1	14.7	1.87	0.605
3-Phenylpropionate	22.8	20.9	2.18	0.573
Tyrosine	2.49	2.32	0.24	0.630
3-Hydroxyphenylacetate	6.53	5.80	0.99	0.641
Fumarate	0.518	0.733	0.39	0.704
Uracil	4.21 ^A	2.24 ^B	0.45	0.004
Glucose	12.3	12.3	1.68	0.991
Galactose	4.82 ^A	3.81 ^B	0.30	0.028
Xylose	9.87	7.43	1.85	0.392
Arabinose	5.95	4.62	0.90	0.338
1,3-Dihydroxyacetone	0.432	0.382	0.273	0.902
Lactate	0.038	0.046	0.008	0.537
Serine	4.86	4.08	0.88	0.531
Betaine	0.669	0.936	0.15	0.249
myo-Inositol	3.54	3.97	0.24	0.242
Threonine	3.60	4.58	1.0	0.476
Glycerol	13.0	12.5	1.54	0.855
Glycine	2.90	3.55	0.48	0.377
Methanol	0.39 ^B	0.53 ^A	0.04	0.025
Proline	2.10	1.97	0.42	0.833
Carnitine	0.282	0.264	0.02	0.558
Choline	1.03	1.19	0.12	0.410
Dimethyl sulfone	0.303	0.384	0.06	0.403
Malonate	0.95	1.02	0.14	0.764
Lysine	5.86	5.82	0.75	0.968
2-Oxoglutarate	1.17	1.47	0.56	0.729
Aspartate	7.60	8.33	0.79	0.552
Methionine sulfoxide	0.548	0.548	0.08	1.000
Methionine	2.42	2.16	0.69	0.796

PSR 2014-2020 regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.1.01

Succinate	1.66	1.88	0.18	0.416
Isobutyrate	52.2	53.5	3.35	0.745
Pyruvate	0.005	0.013	0.008	0.484
Glutamate	11.0	13.0	1.52	0.404
Acetoacetate	0.791	0.840	0.14	0.823
Acetoin	2.26	2.20	0.31	0.907
Levulinate	3.03	3.01	0.34	0.962
Acetate	1059	1028	118	0.866
Thymine	1.18	1.19	0.21	0.977
Alanine	5.60	7.26	0.99	0.293
Cadaverine	7.23	5.61	1.00	0.313
2-Hydroxyisobutyrate	0.579	0.579	0.35	0.999
Valerate	86.7	94.5	12.4	0.981
Fucose	0.668	0.987	0.29	0.475
3-Hydroxybutyrate	3.54	2.79	0.37	0.187
Isopropanol	0.345	0.142	0.11	0.235
3-Methyl-2-oxovalerate	0.479	0.430	0.11	0.771
2-Methyl-3-ketovalerate	0.258	0.239	0.08	0.870
Methylsuccinate	1.42	1.33	0.08	0.440
Propionate	517	532	62.5	0.877
Isoleucine	2.25	2.42	0.33	0.728
Valine	2.56	3.18	0.46	0.391
Leucine	3.66	3.69	0.41	0.960
2-Oxoisocaproate	0.87 ^b	1.12 ^a	0.09	0.071
Isovalerate	34.2	33.0	4.0	0.847
Butyrate	181	180	24.0	0.965

Tabella 13 – Effetto della supplementazione di Arg sul metabolome fecale delle scrofe al d106 di gestazione

Metabolita, µmol/l	Dieta					Ciclo			p-value	
	CO	TRT35	TRT45	TRTCOM	SEM	I	II	SEM	Dieta	Ciclo
Formate	0.618	0.517	0.536	0.479	0.07	0.509	0.566	0.05	0.597	0.448
Hypoxanthine	2.20	2.64	2.59	2.66	0.27	2.15 ^B	2.90 ^A	0.19	0.578	0.007
Xanthine	2.09	1.96	2.18	2.15	0.44	1.84	2.38	0.32	0.983	0.241
Phenylalanine	4.01	3.69	3.76	3.64	0.57	3.94	3.61	0.42	0.972	0.580
Phenylacetate	11.0	13.3	11.0	11.1	1.0	13.1 ^A	10.2 ^B	0.74	0.310	0.005
3-Phenylpropionate	11.4	13.6	12.2	14.5	1.07	12.9	12.9	0.76	0.183	0.991
Tyrosine	2.61	2.24	2.24	2.29	0.46	2.49	2.20	0.35	0.924	0.538
3-Hydroxyphenylacetate	3.43	3.45	3.29	4.30	0.58	4.16 ^a	3.11 ^b	0.39	0.598	0.071
Fumarate	0.333	0.293	0.356	0.272	0.03	0.255 ^B	0.372 ^A	0.02	0.198	< 0.001
Uracil	4.28	4.53	4.61	4.44	0.44	3.91 ^B	5.02 ^A	0.32	0.953	0.014
Glucose	8.61	9.66	10.00	10.27	0.90	9.43	9.80	0.67	0.568	0.701
Galactose	2.79	2.70	2.24	2.65	0.24	2.48	2.71	0.18	0.384	0.365
Xylose	5.69	5.57	5.45	4.83	0.48	5.50	5.26	0.36	0.610	0.630
Arabinose	3.19	3.58	2.72	3.11	0.53	3.30	2.98	0.38	0.718	0.558
1,3-Dihydroxyacetone	0.255	0.287	0.260	0.266	0.03	0.268	0.266	0.02	0.847	0.926
Lactate	1.64	3.13	3.02	2.17	0.85	1.59 ^B	3.39 ^A	0.61	0.551	0.040
Serine	5.54	5.06	5.14	4.97	0.38	5.18	5.18	0.28	0.706	0.995
Betaine	0.853	0.864	0.894	0.829	0.08	0.732 ^B	0.988 ^A	0.06	0.956	0.003
myo-Inositol	2.95	2.44	2.97	2.48	0.25	2.47 ^b	2.95 ^a	0.19	0.260	0.071
Threonine	5.95	5.48	5.74	6.15	0.26	6.12 ^A	5.54 ^B	0.19	0.267	0.029
Glycerol	6.82	8.67	7.69	8.55	0.76	8.10	7.77	0.56	0.274	0.674
Glycine	7.53	6.43	7.11	7.21	0.78	7.07	7.04	0.58	0.769	0.969
Methanol	0.787	0.876	0.926	0.872	0.29	0.890	0.838	0.21	0.990	0.858
Proline	4.33	3.65	4.01	3.95	0.45	4.13	3.84	0.32	0.726	0.502
Carnitine	0.149	0.161	0.188	0.145	0.02	0.163	0.158	0.01	0.176	0.762
Choline	0.629	0.649	0.613	0.580	0.04	0.589	0.646	0.03	0.590	0.140
Dimethyl sulfone	0.520	0.486	0.412	0.491	0.21	0.522	0.433	0.16	0.986	0.683
Malonate	1.04	1.58	1.27	1.48	0.34	1.53	1.15	0.25	0.681	0.274
Lysine	6.74	7.63	7.37	7.47	0.28	7.16	7.45	0.20	0.121	0.317
2-Oxoglutarate	2.07	1.93	1.82	2.22	0.18	2.05	1.97	0.14	0.395	0.662
Aspartate	6.56	5.75	6.54	5.94	0.51	6.04	6.36	0.38	0.563	0.548
Methionine sulfoxide	0.640	0.534	0.604	0.625	0.05	0.601	0.601	0.03	0.434	0.999
Methionine	2.39	2.34	2.28	2.18	0.44	2.31	2.28	0.33	0.989	0.938
Succinate	3.13	2.24	2.85	3.17	0.50	3.16	2.53	0.38	0.507	0.230
Isobutyrate	36.0	41.8	40.5	44.4	4.20	47.3 ^A	34.1 ^B	3.10	0.545	0.002
Pyruvate	0.575	0.383	0.640	0.433	0.22	0.429	0.576	0.16	0.795	0.491
Glutamate	16.2	15.7	17.1	15.6	1.17	15.1 ^b	17.2 ^a	0.85	0.780	0.078
Acetoacetate	0.762	0.879	0.915	0.886	0.08	0.954 ^A	0.767 ^B	0.06	0.485	0.017
Acetoin	2.30	2.25	2.11	1.88	0.44	2.85 ^A	1.59 ^B	0.30	0.907	0.007
Levulinate	2.42	2.13	2.43	2.06	0.46	2.55	1.99	0.34	0.917	0.246
Acetate	547	746	701	668	81.5	720	611	59.7	0.337	0.198
Thymine	1.86	1.95	1.81	1.87	0.22	1.49 ^A	2.25 ^B	0.16	0.972	< 0.001
Alanine	17.0	16.	17.6	16.1	1.32	16.0	17.7	1.0	0.896	0.225
Cadaverine	5.33	6.56	5.41	6.36	0.77	6.83 ^A	5.00 ^B	0.56	0.552	0.022

PSR 2014-2020 regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.1.01

2-Hydroxyisobutyrate	0.360	0.404	0.403	0.383	0.05	0.403	0.372	0.04	0.911	0.544
Valerate	62.6	73.6	62.1	68.7	6.66	72.8 ^a	60.7 ^b	4.90	0.557	0.078
Fucose	2.23	2.02	1.47	2.12	0.29	2.20 ^a	1.72 ^b	0.20	0.238	0.099
3-Hydroxybutyrate	1.92	2.34	2.77	1.71	0.46	2.62 ^a	1.76 ^b	0.34	0.348	0.057
Ethanol	0.849	1.081	0.759	1.125	0.39	0.982	0.901	0.21	0.770	0.782
Isopropanol	0.602	0.956	1.086	1.022	0.27	0.736	1.085	0.21	0.534	0.227
3-Methyl-2-oxovalerate	1.39	1.17	1.20	1.56	0.20	1.38	1.28	0.15	0.448	0.610
2-Methyl-3-ketovalerate	0.830	0.809	0.848	0.912	0.28	0.837	0.861	0.21	0.994	0.936
Methylsuccinate	0.840	1.024	1.060	0.914	0.30	1.107	0.825	0.22	0.950	0.348
Propionate	268	372	372	353	41.0	342	341	29.0	0.179	0.642
Isoleucine	5.77	5.73	5.71	5.18	0.69	5.56	5.62	0.51	0.915	0.928
Valine	7.91	7.90	8.17	7.24	0.81	7.47	8.13	0.60	0.858	0.437
2-Aminobutyrate	0.624	0.523	0.438	0.451	0.21	0.482	0.527	0.15	0.917	0.837
Leucine	6.67	6.76	6.65	6.05	0.74	6.43	6.61	0.55	0.896	0.817
2-Oxoisocaproate	1.75	1.32	1.77	1.74	0.36	1.46	1.83	0.28	0.770	0.341
Isovalerate	23.8	28.4	25.0	29.0	3.35	30.9 ^A	22.3 ^B	2.45	0.615	0.013
Butyrate	98.1	157.7	121.8	151.1	21.1	140	124	15.3	0.153	0.459

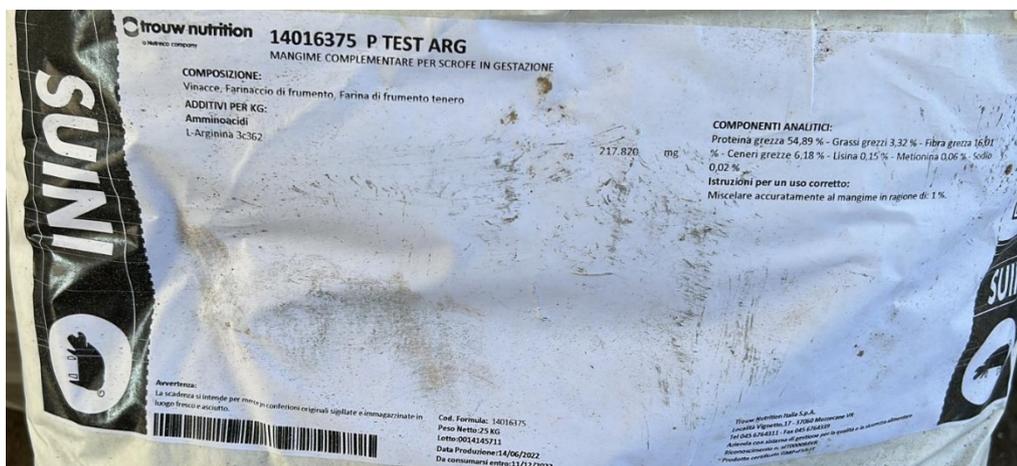


Figura 1. Cartellino della pre-miscela di Arg somministrata alle scrofe in gestazione



Figura 2. Scrofa durante l'allattamento. Il colostro veniva campionato quando la scrofa allattava, in modo da ridurre al minimo lo stress.



Figura 3. Suinetti con marca auricolare blu e bianca, appartenenti a gruppi che hanno assunto rispettivamente la pre-miscela nei primi 35 giorni di gestazione TRT35 o appartenenti al gruppo CO:

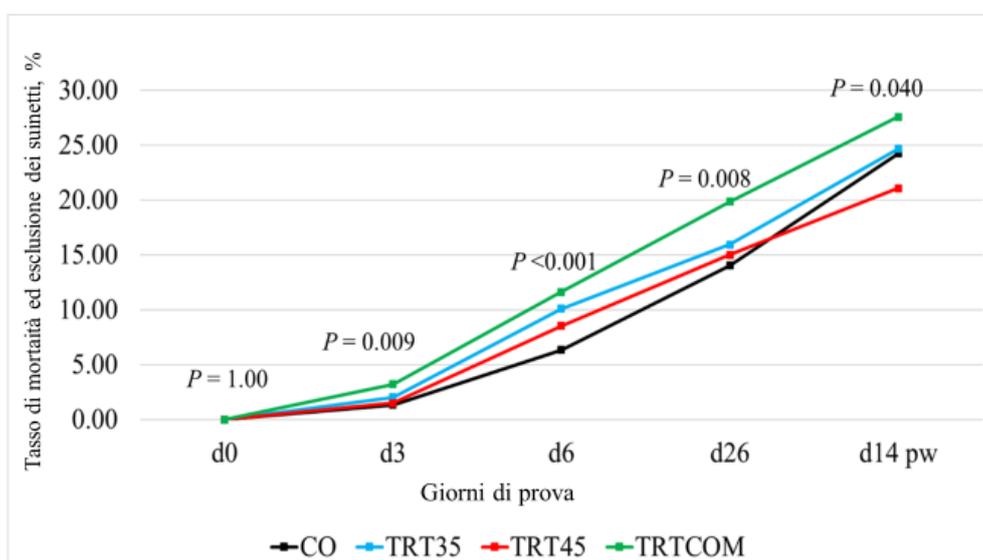


Figura 4. Effetto della supplementazione di Arg sul tasso di mortalità ed esclusione dei suinetti durante il periodo di lattazione e post-svezzamento.

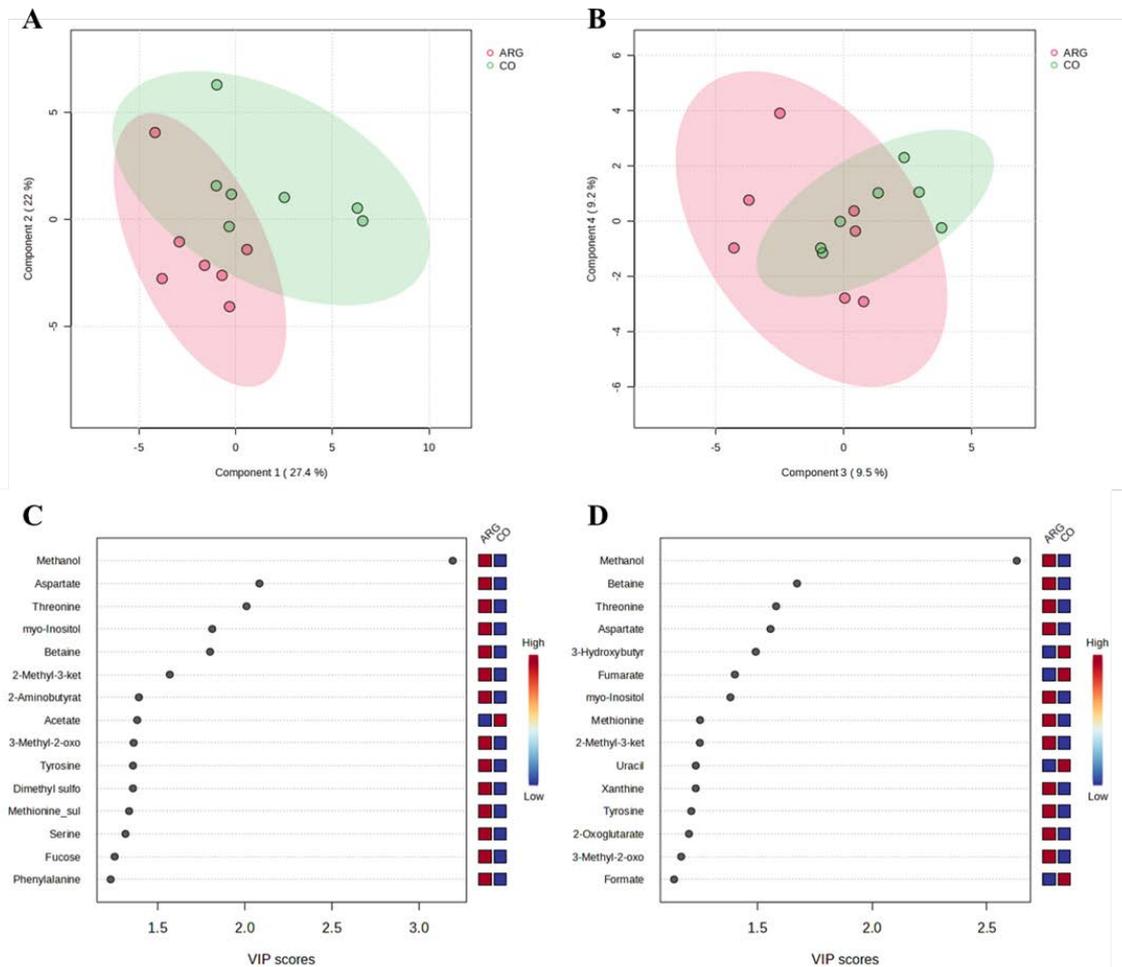


Figura 5. Effetto della supplementazione di Arg sulla caratterizzazione del metaboloma fecale delle scrofe al d35 di gestazione. Gli score-plot della PLS-DA tra le componenti principali (PC) 1 e 2 (Figura A) e 3 e 4 (Figura B) sulla base dei gruppi sperimentali: CO (CO + TRT45) e ARG (TRT35 e TRTCOM). Nelle figure C e D sono riportati in ordine di importanza i metaboliti che maggiormente influenzano la PC1 e la PC2, rispettivamente. I riquadri colorati indicano le relative concentrazioni.

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

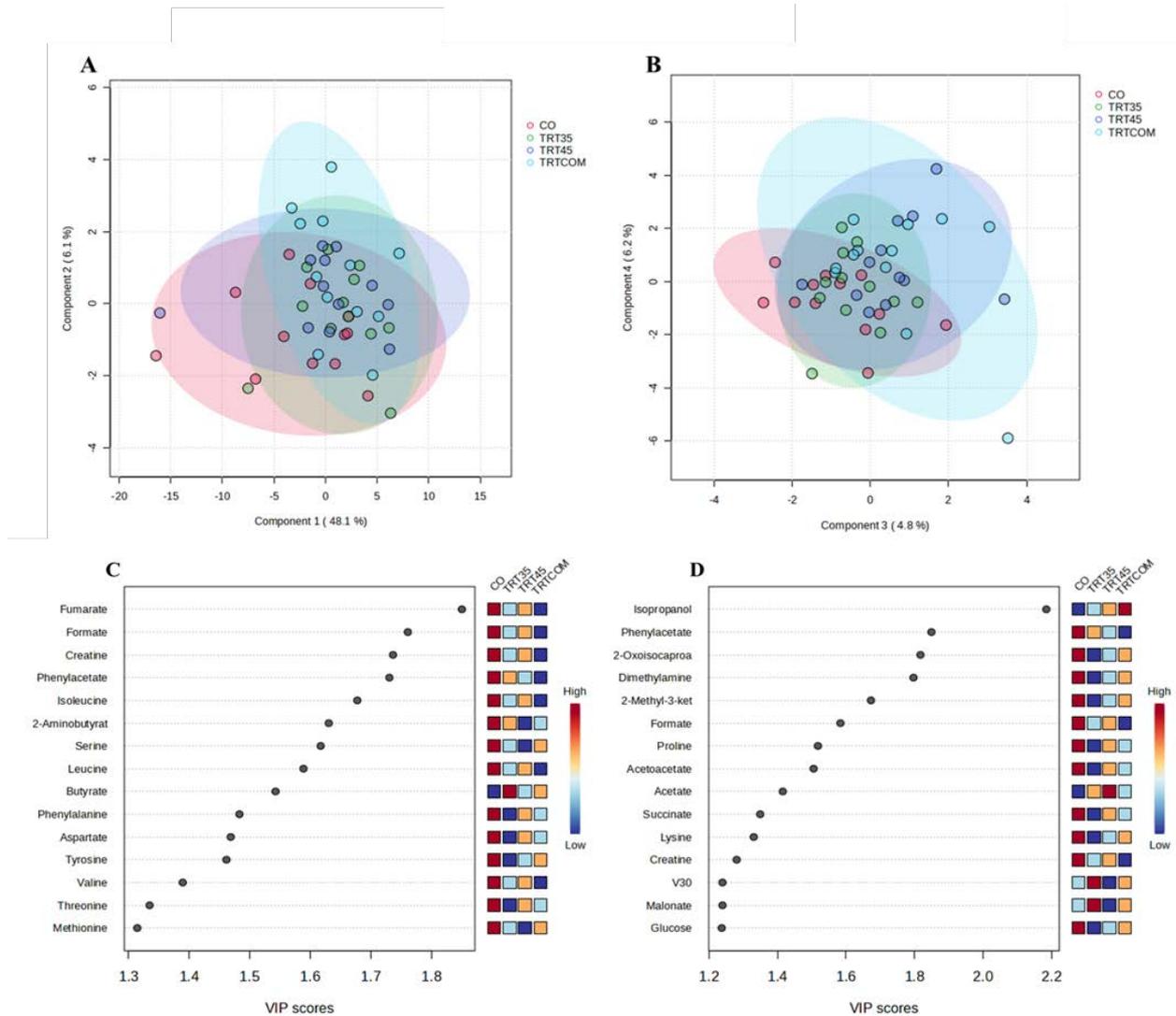
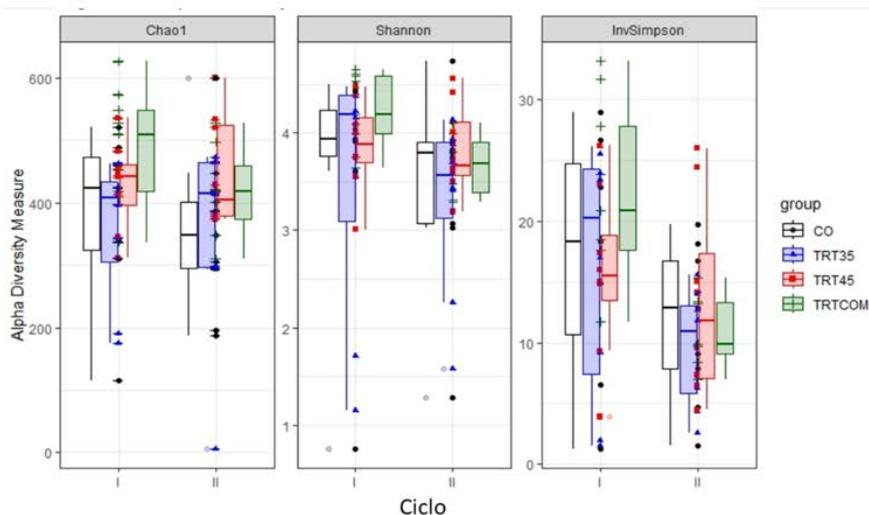


Figura 6. Effetto della somministrazione di Arg sui metaboliti fecali della scrofa al d106 di gestazione. Gli score-plot della PLS-DA tra le componenti principali (PC) 1 e 2 (Figura A) e 3 e 4 (Figura B) sulla base dei gruppi sperimentali: CO, TRT35, TRT45 e TRTCOM. Nelle figure C e D sono riportati in ordine di importanza i metaboliti che maggiormente influenzano la PC1 e la PC2, rispettivamente. I riquadri colorati indicano le relative concentrazioni.

B

A



B

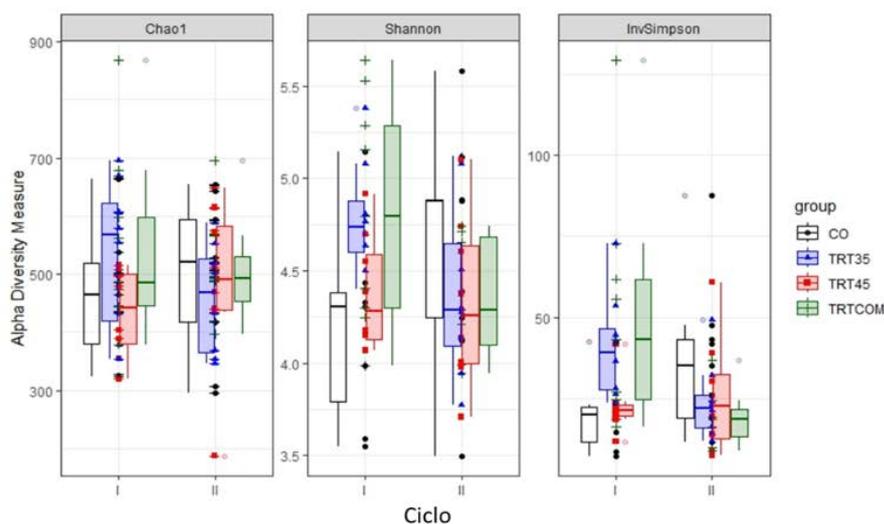


Figure 6. Alpha diversità e gli indici Chao1, Shannon e InvSimpson nei d35 e d106 di gestazione. Non sono state osservate differenze tra i gruppi sperimentali al d35 di gestazione (Figura A). L'indice InvSimpson al d35 era Maggiore al ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.001$), mentre al d106 tendeva ad essere Maggiore durante il ciclo I rispetto al ciclo II ($p=0.085$)(Figura B).

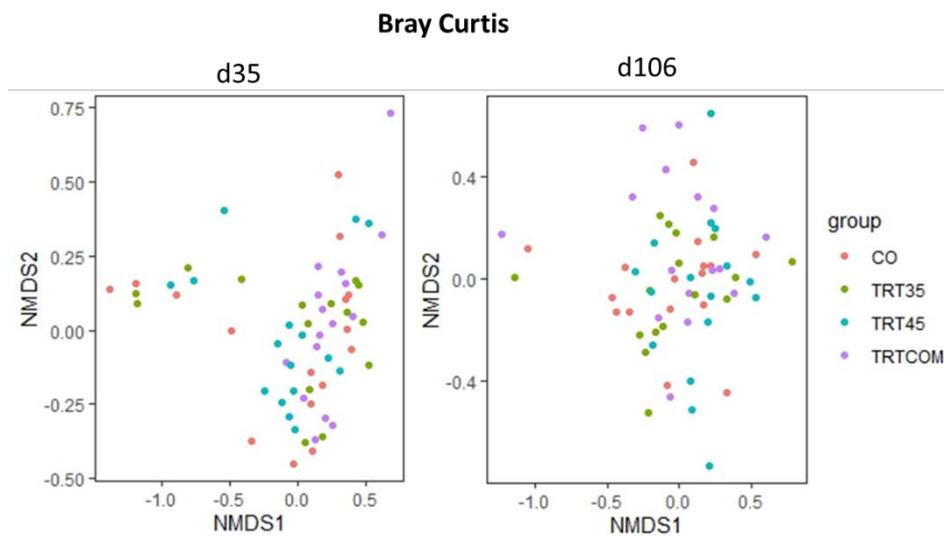


Figura 7. Beta diversità sulla base dei gruppi sperimentali al d35 e d106 di gestazione. La Beta diversità al d35 tendeva ad essere influenzata dalla dieta ($R^2= 0.069$; $p=0.064$) ed è stata influenzata dal ciclo ($R^2= 0.061$; $p=0.002$). Al d106, la Beta diversità non è stata influenzata dalla dieta ($R^2= 0.041$), ma è stata influenzata dal ciclo ($R^2= 0.104$; $p<0.001$).

AZIONE 2

Comparazione di additivi per mangimi sulla salute e le performance di crescita di suinetti allo svezzamento

Prof. Paolo Trevisi

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

Introduzione

Lo svezzamento rappresenta una fase di transizione cruciale nel ciclo di vita dei suinetti, segnando il passaggio dall'assunzione esclusiva di latte materno a una dieta basata principalmente su mangimi solidi (Gresse et al., 2017). Durante questo periodo, l'ottimale gestione nutrizionale riveste un'importanza vitale per garantire una crescita sana e un corretto sviluppo metabolico; aspetti che incideranno direttamente sulla futura produttività e salute degli animali nel breve e nel lungo termine (Chalvon-Demersay et al., 2021). In questo contesto, l'impiego di additivi alimentari ha attirato crescente attenzione per il loro potenziale nel massimizzare l'efficienza alimentare nonché la salute intestinale dei suinetti promuovendo complessivamente il benessere dei suinetti in questa fase delicata di transizione. In particolare, la salute intestinale riveste un ruolo chiave nella salute complessiva degli animali, coinvolgendo funzioni fondamentali quali la digestione e l'assorbimento dei nutrienti, la regolazione del sistema immunitario e dello stato ossidativo nonché un corretto ed equilibrato scambio con i microrganismi dal momento che proprio l'intestino rappresenta il principale sito per il loro sviluppo (Chalvon-Demersay et al., 2021; Jha et al., 2019).

Gli additivi alimentari sono costituiti da una vasta gamma di sostanze; comprendono enzimi, probiotici, acidi organici e fitobiotici, amminoacidi, noti per le loro proprietà benefiche sulla digestione e sull'immunità degli animali (Trevisi et al., 2021). Tuttavia, la selezione appropriata di questi ultimi nonché il loro impiego con un dosaggio ottimale richiedono un approccio basato su solide evidenze scientifiche. Inoltre, da un punto di vista produttivo, pare evidente l'importanza di una valutazione non solo degli evidenti benefici per la salute intestinale e la crescita ma anche dell'aspetto economico nell'impiego di additivi che possono aumentare notevolmente il costo formula delle diete post-svezzamento.

Obiettivo

Lo scopo della presente prova è stato di comparare l'efficacia di diversi mix di additivi innovativi per migliorare la salute dei suinetti nell'ottica di ridurre l'uso di antimicrobici nella fase di svezzamento, senza conseguenze negative sulle performance.

Materiale e metodi

Animali e trattamenti dietetici

In **Figura 1** è riportato lo schema riassuntivo del disegno sperimentale della prova e dei campionamenti eseguiti. La prova sperimentale è stata condotta durante il periodo post-svezzamento su un totale di 814 suinetti provenienti da una singola banda di parti in una delle filiere del Gruppo Martini, situato a Marsciano (PG). Tre giorni prima dello svezzamento (d-3), i suinetti sono stati selezionati in base al peso vivo ed alla nidiata di appartenenza, identificati con marca auricolare numerata ed assegnati ad uno dei quattro gruppi sperimentali

caratterizzate da diverse combinazioni di additivi: i. Control (CTR); ii. Test_1; iii. Test_2; iv. Test_3 come riportato in **Tabella 2**.

Il giorno dello svezzamento (Media \pm Deviazione Standard: 26.4 \pm 3.05 giorni di lattazione), gli animali sono trasportati presso un Sito 2 del Gruppo Martini situato a Capriano del Colle (BS). Gli animali sono stati accasati nei 4 settori dell'allevamento come descritto in **Tabella 1** ed alimentati con le specifiche diete additivate come descritto in **Tabella 2**.

I suini hanno avuto accesso ad libitum ad acqua e mangime. Il piano alimentare era suddiviso in tre fasi, secondo la prassi del Gruppo Martini ed è stato uguale per tutti i gruppi in prova. La fase I ha avuto inizio il giorno dello svezzamento (d0) e si è conclusa al d14. Durante suddetta fase, il mangime per tutte le diete sperimentali è stato distribuito in forma di farina. La fase II ha avuto inizio al d14 e si è conclusa al d31, mentre la fase III ha avuto inizio al d31 e si è conclusa tra il giorno 49 e 50 post-svezzamento (d49/50). Negli ultimi due periodi, la dieta è stata somministrata in forma di pellet. In **Tabella 3** è riportata l'analisi di cartellino delle diete impiegate durante la prova.

Durante i primi 5 giorni post-svezzamento tutti gli animali coinvolti nella prova sperimentale sono stati trattati con Strenzen® – Elanco Italia S.p.A. (Polvere orale; 500 mg + 125 mg Amoxicillina e acido clavulanico) somministrato ai suinetti tramite l'acqua da bere.

Rilevamenti e campionamenti

I suinetti sono stati pesati individualmente a d-3, d14, d31 e a d49/50 ed è stato calcolato l'incremento ponderale giornaliero (IPG) individuale. L'ingestione alimentare e i residui sono stati rilevati costantemente tra le 9.00 e le 11.00 del mattino nei seguenti giorni: d0, sette giorni post-svezzamento (d7), d14, d21, d31, d42 e d49/50. Infine, è stato calcolato la resa (RA) e l'indice di conversione alimentare (ICA). Le lesioni alle orecchie e alla coda sono state valutate negli stessi giorni in cui è stato rilevato il peso degli animali, seguendo il protocollo Welfare Quality® (2009) che prevede la classificazione delle lesioni secondo l'assegnazione di un punteggio a tre classi. Lesioni alla coda: 0, nessun danno; 1, morsicatura superficiale lungo la coda con assenza di gonfiore; 2, lesione aperta visibile sulla coda, presenza di cicatrici, gonfiore o assenza parziale della coda. Lesioni alle orecchie: 0, fino a 4 lesioni visibili; 1, da 5 a 10 lesioni visibili; 2, da 11 a 15 lesioni visibili. Successivamente, il risultato di ciascun box è stato espresso come la prevalenza dei punteggi ottenuti (0, 1, 2). È stato poi calcolato l'indice di punteggio delle lesioni, che tiene conto sia della frequenza che della gravità delle lesioni (varia da 0 a 200, dove 0 indica l'assenza e 200 indica tutti gli animali con lesioni gravi):

l'indice di punteggio delle lesioni (LSI) = [% lesioni di tipo 1 + (2*% lesioni di tipo 2)].

Infine, la mortalità è stata rilevata giornalmente per ogni box interessato dalla prova sperimentale ed è stata espressa come percentuale (%) di suinetti morti sul totale di animali del box sperimentale nel periodo di riferimento.

Le feci sono state campionate a d14 e d31 di prova da un sotto campione di 12 suinetti gruppo/tempo. I campioni sono stati prelevati eseguendo un tampone rettale e sono stati congelati a -80°C per la successiva estrazione del DNA batterico (profilo microbiota 16s rRNA), per la caratterizzazione di metaboliti legati a impatto ambientale (NH₃), salute intestinale (acidi grassi volatili e lattato) e marcatori fecali di infiammazione (calprotectina).

I rilevamenti ambientali hanno interessato principalmente la concentrazione di gas presenti all'interno dell'allevamento tra cui anidride carbonica (CO₂) ed ammoniaca (NH₃) utilizzando un rilevatore multigas portatile Dräger X-am® 8000 (Drägerwerk AG & Co, Lubeca, Germania), l'intensità luminosa con un rilevatore Mini Light Meter (UNI-T UT383, Dongguan City, Cina). Per quanto riguarda le condizioni di allevamento, è stata calcolata l'area del box per determinare la densità degli animali, inoltre è stata misurata la lunghezza della mangiatoia per calcolare il fronte di mangiatoia.

Quantificazione dell'ammoniaca fecale

Per la determinazione dell'ammoniaca, i campioni di feci sono stati scongelati e 1 g di feci è stato diluito a un rapporto peso/volume di 1:10 con acqua deionizzata. Dopo aver vortexato i campioni sono stati centrifugati per 10 minuti a 7000 rpm a 4 °C. La misurazione del NH₃ è stata effettuata con un kit commerciale (Urea/BUN-Color, BioSystems S.A., Barcellona, Spagna) secondo le istruzioni del produttore.

Estrazione DNA microbico fecale

Il DNA batterico totale per l'analisi del microbiota è stato estratto dai campioni fecali utilizzando il FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, Europe, LLC) secondo le istruzioni del produttore. La quantità e la qualità del DNA sono state valutate utilizzando uno spettrofotometro Nanodrop ND 1000 (Nanodrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). Il DNA è stato amplificato per le regioni ipervariabili V3-V4 del gene 16S rRNA. Gli ampliconi sono stati prodotti utilizzando i primer Pro341F: 50-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNBGCASCAG-30 e Pro805R: 50GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGGTATCTAATCC-30 (Takahashi et al. 2014), utilizzando la Platinum™ Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific, Italia). Le librerie sono state preparate utilizzando il protocollo standard per il MiSeq Reagent Kit v3 e sono state sequenziate sulla piattaforma MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, USA).

Quantificazione della calprotectina fecale

La concentrazione di calprotectina fecale (ng/ml) è stata analizzata utilizzando il kit MBS033848 ELISA (Mybiosource, San Diego, CA, USA) seguendo le istruzioni del fornitore ed analizzati in doppio. L'assorbanza dei campioni è stata letta a 450 nm utilizzando il lettore multiplastra Multiskan FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific, USA).

Quantificazione degli acidi grassi volatili e del lattato fecale

La quantificazione degli acidi grassi volatili (acetato, propionato, isobutirrato, butirrato, isovalerato) e dell'acido lattico nei campioni fecali è stata eseguita utilizzando cromatografia liquida ad alta prestazione secondo le seguenti procedure: 5 g di feci sono stati diluiti con 25 mL di soluzione acquosa di H₂SO₄ 0,1 N e omogeneizzati per 2 minuti con UltraTurrax (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germania). La miscela è stata centrifugata (5.000 × g per 15 minuti a 4°C) per separare la fase liquida dal residuo solido e poi microfiltrata (SLMV033RS, 0,45-µm Millex-HV, Merck-Millipore, Billerica, MA). Il campione ottenuto è stato iniettato direttamente nel cromatografo utilizzando una colonna Aminex 85 HPX-87 H a esclusione ionica (300 mm × 7,8 mm; dimensione delle particelle 9 µm; Bio-Rad, Milano, Italia) mantenuta a 40°C; la lunghezza d'onda di rilevamento era di 220 nm. Le analisi sono state eseguite applicando un'eluzione isocratica (flusso 0,6 mL/min) con soluzione di H₂SO₄ 0,008 N come fase mobile; il loop di iniezione era di 20 µL. Gli acidi grassi volatili individuali e l'acido lattico sono stati identificati utilizzando una soluzione standard di 4,50 mg/mL di acido lattico, 5,40 mg/mL di acido acetico, 5,76 mg/mL di acido propionico, 7,02 mg/mL di acido butirrico e isobutirrico, 8,28 mg/mL di acido valerico e isovalerico in H₂SO₄ 0,1 N (69775, 338826, 402907, B103500, 58360, 75054, 129542, rispettivamente; Sigma-Aldrich, Milano, Italia). La quantificazione è stata eseguita utilizzando una curva di calibrazione esterna basata sugli standard descritti sopra (Sandri et al. 2017)

Analisi statistiche

Analisi statistiche e descrittive sono state effettuate tramite l'utilizzo del software R. I dati riguardanti le performance individuali (peso vivo ed IPG) dei suinetti, la sostanza secca e la concentrazione di ammoniaca e calprotectina fecale sono stati analizzate tramite la funzione "lmer" del pacchetto lme4 ed utilizzando un modello cosiddetto "linear mixed-effects". I fattori fissi considerati sono stati il trattamento dietetico ed il sesso, mentre i fattori random sono stati la scrofa a d-3 e il box per tutte le performance riguardanti il periodo post-svezzamento. Per le performance di gruppo tra cui peso vivo medio, IPG medio, ingestione alimentare, la RA, l'ICA e l'indice di punteggio delle lesioni e per i metaboliti nell'aria legati all'impatto ambientale come NH₃ e CO₂, i dati raccolti sono inseriti all'interno di un modello lineare tramite la funzione "lm". Mentre i dati riguardanti la mortalità sono stati analizzati tramite la funzione "glm" e nel caso in cui la distribuzione dei dati avesse seguito la cosiddetta curva di Poisson, questo parametro sarebbe stato incluso all'interno del modello statistico. Contrasti ortogonali sono stati implementati per mettere a confronto le performance degli animali che hanno ingerito la dieta di controllo contro gli animali che hanno ingerito le diete in oggetto di prova (CTR vs Test_1, CTR vs Test_2, CTR vs Test_3). I risultati sono stati espressi come medie ai "minimi quadrati" ± l'errore standard della media. L'effetto generale della dieta è stato considerato significativo a $p \leq 0.05$ e tendente alla significatività a $0.05 < p < 0.10$. I contrasti ortogonali sono stati considerati significativi a $p \leq 0.05$. Per quanto riguarda i parametri

ambientali e le condizioni di allevamento, le analisi descrittive sono state eseguite utilizzando il pacchetto jmv e la funzione "descriptives".

Analisi bioinformatica e statistica microbica

L'analisi del microbiota è stata effettuata utilizzando la pipeline DADA2 (Callahan et al. 2016), e le categorie tassonomiche sono state assegnate utilizzando il Database Silva (release138.1) come riferimento (Quast 2013 et al.). L'alpha diversità (indici di Shannon, Chao1 e Simpson) e Beta (calcolata come matrice di distanza di Bray Curtis), così come l'abbondanza delle categorie tassonomiche, sono state analizzate con il software R 3.6, utilizzando i pacchetti PhyloSeq (McMurdie and Holmes 2013), Vegan (Dixon 2003) e microbiomeMarker (Cao et al. 2022). Le differenze tra i gruppi riguardo gli indici di alpha diversità (Chao1, Shannon e InvSimpson) sono state testate utilizzando un modello lineare per ciascun tempo di campionamento (d14 e d31) includendo la dieta come fattore fisso. Per la diversità beta, è stata costruita una matrice di dissimilarità utilizzando la matrice di distanza di Bray-Curtis come metrica, e i risultati sono stati rappresentati utilizzando un grafico di NMDS. Le differenze sono state testate utilizzando un modello PERMANOVA (Adonis) con 9.999 permutazioni, per ciascun tempo di campionamento, includendo la dieta come fattore fisso. Per l'analisi differenziale dei taxa, è stato utilizzato l'algoritmo LEfSe a livello di genere (punteggio LDA >3 e P.adj < 0.05) per ciascun tempo di campionamento.

Risultati

Performance, lesioni e sopravvivenza dei suinetti

Il peso vivo individuale dei suinetti non è stato influenzato dal trattamento dietetico, risultando in un IPG simile nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con le diete in oggetto di prova durante il periodo sperimentale (**Tabella 4**) così come il peso vivo medio, l'IPG medio del box (**Tabella 5**), l'ingestione alimentare (**Tabella 6**) e l'ICA (**Tabella 7**). La RA tende ad essere influenzata ($p < 0.10$) dalla dieta nel periodo compreso tra il d14 e d31 e durante tutto il periodo post-svezzamento ed è risultata superiore nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con la dieta Test_2 (CTR vs Test_2=0.05) e la dieta Test_3 (CTR vs Test_3=0.05) nel periodo compreso tra il d14 e d31.

L'indice di punteggio delle lesioni è stato influenzato ($p = 0.04$) dal trattamento dietetico nel periodo d49/50; (**Tabella 8**), tuttavia i contrasti tra le diete oggetto della prova ed il gruppo di controllo non hanno evidenziato differenze significative.

Infine, la dieta ha tendenzialmente influenzato il tasso di mortalità ($p < 0.10$) nel periodo d0-d14 e d14-d31, tuttavia anche in questo caso i contrasti tra le diete oggetto della prova ed il gruppo di controllo non hanno evidenziato differenze significative (**Tabella 9**).

Concentrazione di ammoniaca fecale

La concentrazione di NH_3 nelle feci non è stata influenzata dalla dieta ed è risultata simile nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con le diete in oggetto di prova sia al d14 che al d31 (**Figura 2A e B**).

Microbiota fecale

Un totale di 4.601.873 sequenze è stato attribuito ad un totale di 6.767 Amplicon Sequence Variants (ASVs). Le curve di rarefazione prodotte per ciascun gruppo mostrano una tendenza al plateau per tutti i campioni, indicando come il numero di sequenze prodotte siano sufficienti a catturare la variabilità delle comunità microbiche all'interno dei campioni analizzati (**Figura 3**). L'assegnazione tassonomica ha permesso di identificare un totale di 20 phyla, 102 famiglie e 252 generi. I phyla maggiormente rappresentati erano Firmicutes 81.70±8% e Bacteroidota 13.00±7%. Le famiglie maggiormente rappresentate erano Lactobacillaceae 26.34±19%, Lachnospiraceae 19.11±5% e Ruminococcaceae 7.83 ± 3%. I generi maggiormente rappresentati erano *Lactobacillus* 23.66±18%, *Blautia* 4.30±3% and *Clostridium sensu stricto* 3.36 ± 4%

I Boxplot presenti in **Figura 4** mostrano i valori di alpha diversità del microbiota dei suini appartenenti ai diversi trattamenti dietetici nei 2 tempi di campionamento. Il trattamento dietetico non ha influenzato nessuno degli indici di diversità utilizzati nei 2 diversi punti di campionamento.

Mentre l'effetto dei trattamenti dietetici sulla comunità microbica, per ciascun tempo di campionamento, è rappresentato in **Figura 5A e B**. Il test di adonis non ha evidenziato nessuna differenza significativa tra le comunità microbiche dei suinetti alimentati con i diversi trattamenti dietetici in entrambi i punti di campionamento (d14 P=0.11, R²= 0.079; d31 P=0.88, R²= 0.049).

Per identificare possibili differenze riguardo l'abbondanza di singoli taxa tra i vari gruppi, è stato applicato l'algoritmo LEfSe sui dati aggregati a livello di genere in ogni punto di campionamento (**Figura 6A e B**). Al d14, suinetti del gruppo Test 1 erano caratterizzati da una maggiore abbondanza di *Holdemanella* (LDA score= 3.47; P.adj= 0.015) e di *Oscillospira* (LDA score= 3.32; P.adj= 0.020) mentre i suinetti del gruppo Test 2 di *Clostridium sensu stricto* 1 (LDA score= 4.45; P.adj= 0.006), *Treponema* (LDA score= 3.89; P.adj= 0.031) e di *Oscillibacter* (LDA score= 3.18; P.adj= 0.036) mentre non sono stati evidenziati degli altri taxa specifici per altri gruppi. Al d31 il gruppo CTR è stato caratterizzato da una maggiore abbondanza di Ruminococcaceae UCG-005 (LDA score= 0.01; P.adj= 0.006) ed il gruppo Test1 da un genere appartenente alla classe Bacteroidales (LDA score= 3.89; P.adj= 0.031) mentre non sono stati evidenziati degli altri taxa specifici per altri gruppi.

Concentrazione di calprotectina fecale

La concentrazione di calprotectina fecale è stata influenzata dal trattamento dietetico sia a d14 che a d31 ($p < 0.01$), tuttavia i contrasti tra le diete oggetto della prova ed il gruppo di controllo non hanno evidenziato differenze significative sia al d14 che al d31 (**Figura 7A e B**).

Sostanza secca fecale

La sostanza secca nelle feci non è stata influenzata dalla dieta ed è risultata simile nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con le diete in oggetto di prova sia a d14 e sia a d31 (**Figura 8A e B**).

Acidi grassi volatili e lattato fecale

La concentrazione di acetato e propionato sono stati tendenzialmente influenzati dalla dieta ($p < 0.10$) a d14 tuttavia i contrasti tra le diete oggetto della prova ed il gruppo di controllo non hanno evidenziato differenze significative (**Tabella 10**). La concentrazione di isobutirrato è stata influenzata ($p < 0.05$) dal trattamento dietetico sia a d14 che a d31 ed è risultata superiore nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con la dieta Test_1 (CTR vs Test_1=0.007) al d14, mentre nessuna differenza è stata osservata tra il gruppo CTR e gli animali alimentati con le diete in oggetto di prova a d31. Infine, la concentrazione di lattato nelle feci non è stata influenzata dalla dieta ed è risultata simile nei suinetti che hanno ricevuto la dieta CTR rispetto ai suinetti alimentati con le diete in oggetto di prova sia al d14 che al d31.

Parametri ambientali e condizioni di allevamento

I dati relativi ai parametri ambientali, quali la concentrazione media di NH_3 e CO_2 e le condizioni di allevamento, quali l'intensità luminosa e disponibilità di spazio, rilevati durante il periodo sperimentale, sono riportati nella **Tabella 11**. La concentrazione di NH_3 e CO_2 rilevata durante il periodo di prova non è stata influenzata dalla dieta (**Tabella 12**).

Discussione

Dai risultati ottenuti dal presente studio, emerge che le diete in oggetto di prova (Test 1, Test 2 e Test 3) non hanno migliorato le performance zootecniche rispetto alla dieta CTR, comunemente utilizzata dal gruppo Martini in buona parte dei suoi siti produttivi. La dieta CTR è stata maggiormente efficace nel migliorare la RA nel periodo compreso tra d14 e d31 rispetto ai gruppi Test 2 e Test 3. Per quanto riguarda la salute intestinale, nel presente studio è stata utilizzato il materiale fecale, preferibile in quanto considerato un campionamento non invasivo, per valutare l'effetto delle diete sul profilo microbico nonché su marcatori legati all'infiammazione intestinale come la calprotectina.

L'analisi del microbiota fecale non ha evidenziato un effetto particolarmente rilevante sull'equilibrio microbico degli animali, tuttavia l'analisi LEfSe ha identificato alcuni generi microbici, considerati potenziali contributori alla salute intestinale, significativamente

arricchiti nei campioni fecali raccolti a d14 e d31 delle diverse diete in prova. In particolare, al d14, i generi *Holdemanella* e *Oscillobacter* sono risultati rispettivamente più abbondanti nei gruppi Test 1 e Test 2. Recenti studi hanno evidenziato questi generi batterici come potenziali marcatori della salute intestinale e hanno evidenziato una correlazione positiva di quest'ultimi con il consumo di fibre alimentari (Li et al., 2016; Zhang et al., 2022; Burakova et al., 2022; Myint et al., 2018). Nel presente studio sia la dieta Test 1 che la dieta Test 2 condividevano nella loro formulazione l'inclusione di Citrobex® feed, un additivo alimentare contenente estratti vegetali ricavati dagli scarti di lavorazione della *Citrus aurantium*. Pertanto, quest'ultimo potrebbe aver influenzato positivamente la selezione di questi generi microbici promuovendo la salute intestinale dei suinetti, sebbene non vi siano stati degli effetti positivi nelle performance di crescita a differenza di quanto osservato da Sala et al. (2019). Al d31, invece, il genere *Ruminococcaceae* UCG-005 è risultato significativamente arricchito nei campioni fecali appartenenti ai suinetti alimentati con la dieta CTR. Un recente studio ha dimostrato che questo genere risulta essere promotore della sintesi intestinale di acidi grassi volatili nonché dell'IPG (Andrade et al., 2020; Tang et al., 2020). In accordo con quanto osservato dai precedenti studi, anche nel presente studio si è osservato un miglioramento della RA dei suinetti nel gruppo CTR caratterizzato dalla maggior abbondanza del genere *Ruminococcaceae* UCG-005. Tuttavia, sebbene spesso ad una migliore RA è associato anche un miglioramento dell'IPG (Varel, 1987), tale effetto non è stato osservato.

Nel presente studio è stata inoltre analizzata la concentrazione fecale degli acidi grassi volatili in quando un possibile cambiamento della comunità microbica avrebbe potuto modificare anche l'abbondanza di questi ultimi. In accordo con le differenze minori osservate nel microbiota anche la concentrazione degli SCFA non è stata influenzata in maniera estremamente rilevante. Al giorno 31 non sono state rilevante differenze mentre al giorno 14 è stata osservata una maggiore concentrazione di isobutirrato nei campioni fecali provenienti dai suinetti alimentati con la dieta CTR rispetto a quelli alimentati con la dieta Test 1. L'isobutirrato fecale può originare dalla fermentazione della valina da parte del microbiota intestinale, ed è utilizzato come marcatore della fermentazione delle proteine nell'intestino crasso (Dai et al., 2011). Tale risultato potrebbe indicare un peggior utilizzo delle proteine da parte degli animali del gruppo CTR rispetto a quelli del gruppo Test 1. Tuttavia i risultati di performance e la mancanza di differenza nella concentrazione NH₃ fecale tra i gruppi suggeriscono la corretta digestione proteica da parte del gruppo CTR. Infine anche i parametri ambientali rilevati all'intero dei box non hanno mostrato un effetto delle diete con diverse additivazioni sulla produzione di gas quali NH₃ e CO₂.

In conclusione, i mix di additivi oggetto di prova non hanno migliorato le performance zootecniche e sono risultati meno efficienti dal punto di vista produttivo. Hanno leggermente modificato il microbiota intestinale ma non hanno alterato né migliorato la salute intestinale dei suinetti nel periodo post-svezzamento.

Infine si sono dimostrati inefficaci nel ridurre la mortalità e le lesioni corporee degli animali così come non hanno modificato la concentrazione di gas legati all'impatto ambientale.

Pertanto, le diete oggetto di prova non hanno dimostrato effetti migliorativi rispetto alla dieta comunemente utilizzata dal gruppo Martini. Per ulteriori studi, sarebbe interessante esplorare se altri mix di additivi possano essere efficaci nelle stesse condizioni di allevamento.

Bibliografia

- Andrade, B. G., Bressani, F. A., Cuadrat, R. R., Tizioto, P. C., de Oliveira, P. S., Mourão, G. B., ... & Regitano, L. C. (2020). The structure of microbial populations in Nelore GIT reveals inter-dependency of methanogens in feces and rumen. *Journal of animal science and biotechnology*, 11, 1-10.
- Burakova, I.; Smirnova, Y.; Gryaznova, M.; Syromyatnikov, M.; Chizhkov, P.; Popov, E.; Popov, V. The Effect of Short-Term Consumption of Lactic Acid Bacteria on the Gut Microbiota in Obese People. *Nutrients* 2022, 14, 3384. [CrossRef]
Callahan, Benjamin J, Paul J McMurdie, Michael J Rosen, Andrew W Han, Amy Jo A Johnson, and Susan P Holmes. 2016. "DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data." *Nature Methods* 13 (7): 581–83. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Cao, Yang, Qingyang Dong, Dan Wang, Pengcheng Zhang, Ying Liu, and Chao Niu. 2022. "microbiomeMarker: An r/Bioconductor Package for Microbiome Marker Identification and Visualization." Edited by Tobias Marschall. *Bioinformatics* 38 (16): 4027–29. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac438>.
- Chalvon-Demersay, T., Luise, D., Le Floc'h, N., Tesseraud, S., Lambert, W., Bosi, P., ... & Corrent, E. (2021). Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 663727.
- Dai, Z., Wu, Z., Hang, S., Zhu, W. & Wu, G. (2015). Amino acid metabolism in intestinal bacteria and its potential implications for mammalian reproduction. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 21, 389-409.: <https://doi.org/10.1093/molehr/gav003>
- Dixon, Philip. 2003. "VEGAN, a Package of r Functions for Community Ecology." *Journal of Vegetation Science* 14 (6): 927–30. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>.
- Gresse, R., Chaucheyras-Durand, F., Fleury, M. A., Van de Wiele, T., Forano, E., & Blanquet-Diot, S. (2017). Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. *Trends in microbiology*, 25(10), 851-873.
- Jha, R., Fohse, J. M., Tiwari, U. P., Li, L., & Willing, B. P. (2019). Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Frontiers in veterinary science*, 6, 48.
- Li, J., Sung, C. Y. J., Lee, N., Ni, Y., Pihlajamäki, J., Panagiotou, G., & El-Nezami, H. (2016). Probiotics modulated gut microbiota suppresses hepatocellular carcinoma growth in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(9), E1306-E1315.

- McMurdie, Paul J., and Susan Holmes. 2013. "Phyloseq: An r Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data." Edited by Michael Watson. *PLoS ONE* 8 (4): e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
- Myint, H., Kishi, H., Iwahashi, Y., Saburi, W., Koike, S., & Kobayashi, Y. (2018). Functional modulation of caecal fermentation and microbiota in rat by feeding bean husk as a dietary fibre supplement. *Beneficial microbes*, 9(6), 963-974.
- Quast, Christian, Elmar Pruesse, Pelin Yilmaz, Jan Gerken, Timmy Schweer, Pablo Yarza, Jörg Peplies, and Frank Oliver Glöckner. 2012. "The SILVA Ribosomal RNA Gene Database Project: Improved Data Processing and Web-Based Tools." *Nucleic Acids Research* 41 (D1): D590–96. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Sala, L. P., Uriol, A. F., & Gutiérrez, D. R. (2019). Estudio comparativo del efecto de Citrobex sobre el rendimiento productivo y salud de los lechones en fase de transición. *Anaporc: revista de la Asociación de Porcinocultura Científica*, 16(166), 38-40.
- Takahashi, Shunsuke, Junko Tomita, Kaori Nishioka, Takayoshi Hisada, and Miyuki Nishijima. 2014. "Development of a Prokaryotic Universal Primer for Simultaneous Analysis of Bacteria and Archaea Using Next-Generation Sequencing." Edited by Kostas Bourtzis. *PLoS ONE* 9 (8): e105592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105592>.
- Trevisi, P., Luise, D., Correa, F., & Bosi, P. (2021). Timely control of gastrointestinal eubiosis: A strategic pillar of pig health. *Microorganisms*, 9(2), 313
- Varel, V. H. (1987). Activity of fiber-degrading microorganisms in the pig large intestine. *Journal of animal science*, 65, 488-496. <https://doi.org/10.2527/jas1987.652488x>
- Zhang, C., Liang, D., Li, X., Liu, J., Fan, M., Jing, M., ... & Li, D. (2022). Characteristics of gut microbial profiles of offshore workers and its associations with diet. *Frontiers in Nutrition*, 9, 904927.

Tabelle e figure

Tabella 1. Schema di accasamento dei suinetti coinvolti nella prova sperimentale

n° Box	Settore	Colore	Trattamenti dietetici	Lato lungo, m	Lato corto, m	Area, m ²	n° di suinetti	Disponibilità di spazio, m ² /suinetto
11	1	Pink	Test_2	5.81	2.39	13.89	48	0.29
13	1	Yellow	CTR	5.81	2.39	13.89	48	0.29
15	1	Red	Test_3	5.81	2.39	13.89	48	0.29
17	1	Orange	Test_1	5.81	2.39	13.89	48	0.29
23	2	Red	Test_3	4.42	2.48	10.96	38	0.29
24	2	Pink	Test_2	4.42	2.48	10.96	38	0.29
27	2	Orange	Test_1	4.42	2.48	10.96	38	0.29
28	2	Yellow	CTR	4.42	2.48	10.96	38	0.29
29	3	Red	Test_3	5.35	2.3	12.31	35	0.35
30	3	Pink	Test_2	5.35	2.3	12.31	35	0.35
31	3	Orange	Test_1	5.35	2.3	12.31	35	0.35
32	3	Yellow	CTR	5.35	2.3	12.31	35	0.35
33	4	Orange	Test_1	4.7	2.5	11.75	41	0.29
34	4	Yellow	CTR	4.7	2.5	11.75	43	0.27
35	4	Orange	Test_1	4.7	2.5	11.75	41	0.29
36	4	Yellow	CTR	4.7	2.5	11.75	41	0.29
37	4	Pink	Test_2	4.7	2.5	11.75	41	0.29
38	4	Red	Test_3	4.7	2.5	11.75	41	0.29
39	4	Pink	Test_2	4.7	2.5	11.75	41	0.29
40	4	Red	Test_3	4.7	2.5	11.75	41	0.29

Tabella 2. Descrizione delle combinazioni di additivi nelle diete sperimentali

Paramento	Dieta			
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3
Fase I				
Acido formico 70%	0.833	0.833	0.833	0.833
Arbocel-lignocellulosa	0.95			
Aviplus s suini (vetagro)	0.2			
Balancius muramidasi	0.05	0.05	0.05	
Citrobex feed (citrus aurantium)		0.15	0.15	
Provenia (acido benzoico protetto)	0.25			
Hemicell b-mannanasi				0.03
Silvateam - Tannini				0.2
Inneus® piglet			0.1	
Litotamnio-acid-buf Ca organico	0.55	0.55	0.5	0.5
Thr/Lys SID	0.85/1.3	0.85/1,3	0.91/1.3	0.85/1.3
Trp/Lys SID	0.28/1.3	0.28/1,3	0.34/1.3	0.28/1.3
Fase II				
Acido formico 70%	0.833	0.833	0.833	0.833
Arbocel-lignocellulosa	0.333			
Balancius muramidasi		0.05	0.05	
Citrobex feed (Citrus aurantium)		0.15	0.15	
Hemicell b-mannanasi	0.03			0.03
Inneus® piglet			0.1	
Litotamnio-acid-buf Ca organico	0.5	0.5	0.5	0.5
Miya gold (clostridium butyricum)	0.05			
Provenia (acido benzoico protetto)	0.25			
Silvateam - Tannini				0.2
Thr/Lys SID	0.705/1.05	0.705/1.05	0.735/1.05	0.705/1.05
Trp/Lys SID	0.22/1.05	0.22/1.05	0.273/1.05	0.22/1.05
Fase III				
Acido formico 70%	0.833	0.833	0.833	0.833
Arbocel-lignocellulosa	0.333			
Balancius muramidasi				
Citrobex feed (Citrus aurantium)		0.15	0.15	
Hemicell b-mannanasi	0.03			0.03
Litotamnio-acid-buf Ca organico	0.5	0.5	0.5	0.5
Miya gold (clostridium butyricum)	0.05			
Provenia (acido benzoico protetto)	0.25			
Silvateam - Tannini				0.2
Thr/Lys SID	0.72/1.075	0.72/1.075	0.755/1.075	0.72/1.075
Trp/Lys SID	0.215/1.075	0.215/1.075	0.28/1.075	0.215/1.075

Tabella 3. Analisi di cartellino delle diete sperimentali

Paramento	Dieta			
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3
Fase I				
Sostanza secca,%	89.77	89.64	89.64	89.7
Proteine,%	15.05	15.01	15	14.99
Lipidi,%	5.28	5.24	5.25	5.25
Fibra,%	4.77	4.24	4.25	4.25
Ceneri,%	5.26	5.09	5.1	5.43
Energia digeribile, Kcal/kg	3294	3323	3320	3302
Fase II				
Sostanza secca, %	87.44	87.41	87.43	87.5
Proteine, %	15.32	15.26	15.28	15.27
Lipidi, %	4.95	4.86	4.89	5.25
Fibra, %	4.05	3.86	3.86	3.86
Ceneri, %	4.65	4.73	4.73	5.07
Energia digeribile, Kcal/kg	3234	3232	3233	3233
Fase III				
Sostanza secca,%	87.57	87.55	87.55	87.56
Proteine, %	16.02	16.01	16.01	15.97
Lipidi, %	5.17	5.27	5.27	5.32
Fibra, %	3.59	3.5	3.5	3.5
Ceneri,%	4.65	4.78	4.78	4.86
Energia digeribile, Kcal/kg	3336	3336	3336	3336

Tabella 5. Effetti del trattamento dietetico (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) e del sesso su peso e incremento ponderale giornaliero medio per box dei suini nel periodo post-svezzamento.

Parametri	Trattamenti dietetici				SEM	P-value <i>Dieta</i>	Contrasti ortogonali		
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3			CTR vs Test_1	CTR vs Test_2	CTR vs Test_3
Peso vivo, kg									
d-3	6.45	6.38	6.56	6.47	0.188	0.15	0.95	0.95	0.95
d14	8.69	8.79	9.19	8.8	0.273	0.59	0.79	0.64	0.79
d31	15.5	15.4	15.3	14.9	0.486	0.82	0.90	0.90	0.90
d49/50	24.4	23.8	23.8	23	0.797	0.66	0.61	0.61	0.61
IPG, g/d									
d-3 a d14	131	140	151	136	6.5	0.22	0.53	0.15	0.64
d14 a d31	395	388	361	357	16.4	0.29	0.75	0.23	0.23
d31 a d49/50	484	456	462	438	21.8	0.53	0.48	0.48	0.47
d-3 a d49/50	341	332	328	315	12.4	0.51	0.58	0.58	0.44

Tabella 6. Effetti del trattamento dietetico (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) sull'ingestione alimentare media per box dei suini nel periodo post-svezzamento.

Ingestione alimentare, g/suinetto/giorno	Trattamenti dietetici				SEM	P-value <i>Dieta</i>	Contrasti ortogonali		
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3			<i>CTR vs Test_1</i>	<i>CTR vs Test_2</i>	<i>CTR vs Test_3</i>
d0 a d6	204	204	233	183	17.8	0.29	1.00	0.62	0.62
d7 a d13	317	351	335	313	19.6	0.50	0.69	0.79	0.88
d0 a d13	293	314	305	280	17.1	0.55	0.65	0.65	0.65
d14 a d20	546	566	578	556	34.3	0.92	0.84	0.84	0.84
d21 a d30	629	647	655	653	31.0	0.93	0.68	0.68	0.68
d14 a d30	595	621	629	620	31.9	0.88	0.58	0.58	0.58
d31 a d41	726	770	716	718	30.2	0.55	0.85	0.85	0.85
d42 a d48/49	821	790	800	769	37.4	0.81	0.70	0.70	0.70
d31 a d48/49	777	793	762	760	30.3	0.85	0.73	0.73	0.73
d0 a d48/49	576	594	588	576	22.9	0.92	0.99	0.99	0.99

Tabella 7. Effetti del trattamento dietetico (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) sulla resa alimentare e l'indice di conversione medio per box dei suini nel periodo post-svezzamento.

Parametri	Trattamenti dietetici				SEM	P-value	Contrasti ortogonali		
	CTR	SEM	Dieta	CTR vs Test_1			Dieta	CTR vs Test_1	CTR vs Test_2
Resa alimentare (RA)									
d-3 a d14	0.453	0.449	0.500	0.487	0.0280	0.51	0.91	0.61	0.61
d14 a d31	0.666	0.630	0.577	0.579	0.0260	0.08	0.35	0.05	0.05
d31 a d49/50	0.625	0.575	0.605	0.576	0.0166	0.15	0.09	0.41	0.09
d-3 a d49/50	0.594	0.559	0.559	0.547	0.0127	0.09	0.07	0.07	0.06
Indice di conversione alimentare (ICA)									
d-3 a d14	2.24	2.24	2.02	2.09	0.127	0.52	0.99	0.62	0.62
d14 a d31	1.51	1.60	1.75	1.74	0.072	0.10	0.39	0.06	0.06
d31 a d49/50	1.60	1.75	1.66	1.74	0.050	0.15	0.10	0.47	0.10
d-3 a d49/50	1.69	1.79	1.80	1.83	0.041	0.11	0.09	0.09	0.06

Tabella 8 Effetti del trattamento dietetico (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) sull'indice di punteggio delle lesioni dei suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14, 31 e 49/50.

Indice di lesione (LSI)	Trattamenti dietetici				CTR	P-value	Contrasti ortogonali		
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3			Dieta	CTR vs Test_1	CTR vs Test_2
d14									
Orecchie	26.5	41.1	43.5	43.5	7.08	0.30	0.16	0.16	0.16
Coda	2.0	1.3	1.4	3.7	1.54	0.70	0.80	0.80	0.80
d31									
Orecchie	33.4	37.9	59.0	61.4	14.60	0.44	0.83	0.35	0.35
Coda	6.2	1.1	6.4	6.2	3.29	0.60	0.85	1.00	1.00
d49/50									
Orecchie	8.3	8.3	47.9	19.2	17.60	0.37	1.00	0.40	1.00
Coda	29.9	21.1	20.4	44.8	6.12	0.04	0.33	0.31	0.33

Tabella 9 Effetti del trattamento dietetico (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) sul tasso di mortalità dei suini nel periodo post-svezzamento.

Mortalità, % di suinetti	Trattamenti dietetici				P-value	Contrasti ortogonali			
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3		CTR	Dieta	CTR vs Test_1	CTR vs Test_2
d0 a d7	0.46	2.48	0.00	0.83	0.725	0.08	0.06	0.99	0.71
d7 a d14	2.48	3.96	1.98	2.56	1.370	0.76	0.97	0.97	0.97
d0 a d14	2.95	6.37	1.98	3.40	1.260	0.08	0.22	0.80	0.80
d14 a d21	2.55	3.12	1.41	1.40	1.720	0.16	0.59	0.31	0.31
d21 a d31	3.09	4.28	3.10	2.36	1.770	0.41	0.72	0.99	0.72
d14 a d31	5.40	7.18	4.40	3.67	3.130	0.09	0.39	0.48	0.39
d31 a d42	0.57	0.53	0.00	0.43	0.445	0.21	0.99	0.99	0.99
d42 a d49/50	0.61	0.61	0.00	0.51	0.499	0.17	1.00	1.00	1.00
d31 a d49/50	1.18	1.21	0.00	1.00	0.720	0.59	0.99	0.99	0.99
d0 a d49/50	9.27	14.07	6.31	7.74	3.630	0.46	0.77	0.77	0.77

Tabella 10. Concentrazione di acidi grassi volatili e lattato nelle feci dei suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 e 31

Acidi grassi volatili e lattato, mmol/g	Trattamenti dietetici				CTR	P-value	Contrasti ortogonali		
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3			Dieta	CTR vs Test_1	CTR vs Test_2
<i>d14</i>									
Acetato	0.217	0.254	0.211	0.229	0.0124	0.07	0.35	0.72	0.72
Propionato	0.089	0.115	0.091	0.089	0.0128	0.09	0.47	0.91	1.00
Isobutirrato	0.067	0.021	0.067	0.069	0.0068	<0.01	<0.01	0.87	0.87
Butirrato	0.091	0.067	0.037	0.047	0.0391	0.73	0.62	0.62	0.62
Isovalerato	0.012	0.019	0.006	0.011	0.0041	0.23	0.84	0.60	0.84
Lattato	0.024	0.030	0.30	0.036	0.0054	0.36	0.56	0.56	0.47
<i>d31</i>									
Acetato	0.268	0.252	0.233	0.272	0.0215	0.60	0.95	0.95	0.95
Propionato	0.113	0.114	0.097	0.099	0.0088	0.33	0.98	0.68	0.70
Isobutirrato	0.022	0.020	0.024	0.012	0.0037	0.02	0.40	0.85	0.17
Butirrato	0.057	0.069	0.058	0.046	0.0149	0.75	0.93	0.93	0.93
Isovalerato	0.035	0.179	0.0171	0.0114	0.0101	0.31	0.47	0.84	0.47
Lattato	0.031	0.030	0.021	0.030	0.0050	0.69	0.99	0.99	0.99

Tabella 11. Analisi descrittiva dei parametri ambientali e delle condizioni di allevamento

Parametri ambientali e Condizioni di allevamento	Media	Dev Std	Min	Max
d14				
CO ₂ , Vol%	0.10	0.022	0.06	0.13
NH ₃ , ppm	1.63	3.162	0.00	8.00
Intensità luminosa, lux	90.8	64.7	9.5	216.5
Disponibilità di spazio, m ² /suinetto	0.31	0.028	0.28	0.37
d31				
CO ₂ , Vol%	0.11	0.030	0.07	0.18
NH ₃ , ppm	1.23	1.673	0.00	4.50
Intensità luminosa, lux	132.8	110.1	6.0	345.0
Disponibilità di spazio, m ² /suinetto	0.33	0.032	0.28	0.38
d49/50				
CO ₂ , Vol%	0.15	0.025	0.11	0.19
NH ₃ , ppm	1.15	1.319	0.00	3.00
Intensità luminosa, lux	149.7	130.7	12.5	520.0
Disponibilità di spazio, m ² /suinetto	0.33	0.034	0.28	0.38

Tabella 12. Effetti del trattamento dietetico sulla concentrazione di anidride carbonica (CO₂) ed ammoniaca (NH₃) presenti all'interno dell'allevamento suino nel periodo post-svezzamento nei giorni 14, 31 e 49/50.

Parametri ambientali	Trattamenti dietetici				SEM	P-value <i>Dieta</i>	Contrasti ortogonali		
	CTR	Test_1	Test_2	Test_3			<i>CTR vs Test_1</i>	<i>CTR vs Test_2</i>	<i>CTR vs Test_3</i>
d14									
CO ₂ , Vol%	0.10	0.09	0.09	0.10	0.011	0.95	0.97	0.97	0.97
NH ₃ , ppm	1.9	1.5	1.5	1.6	1.54	0.99	0.89	0.89	0.89
d31									
CO ₂ , Vol%	0.11	0.10	0.11	0.12	0.014	0.87	0.85	0.85	0.85
NH ₃ , ppm	1.3	0.8	0.9	1.9	0.79	0.75	0.72	0.72	0.72
d49/50									
CO ₂ , Vol%	0.15	0.13	0.16	0.16	0.011	0.32	0.50	0.92	0.92
NH ₃ , ppm	1.1	0.4	1.5	1.6	0.50	0.16	0.64	0.64	0.64

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

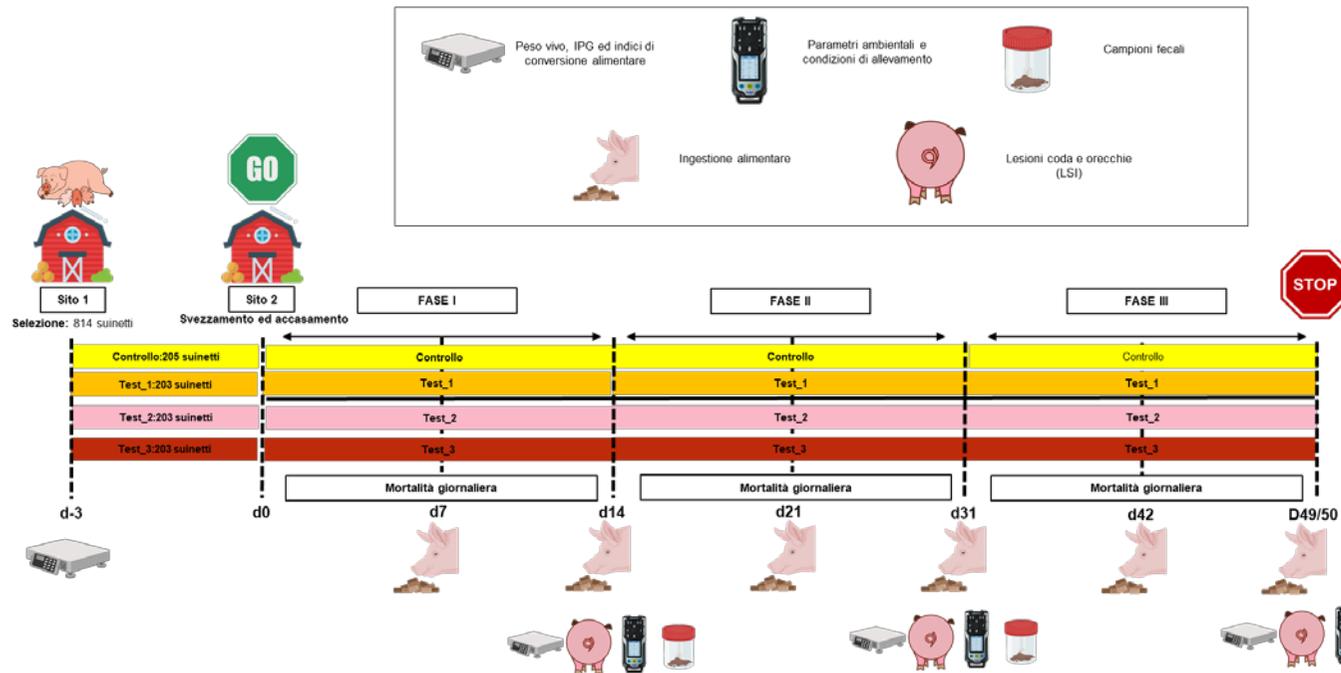


Figura 1: Schema generale della prova sperimentale

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3° - Misura 16.2.1

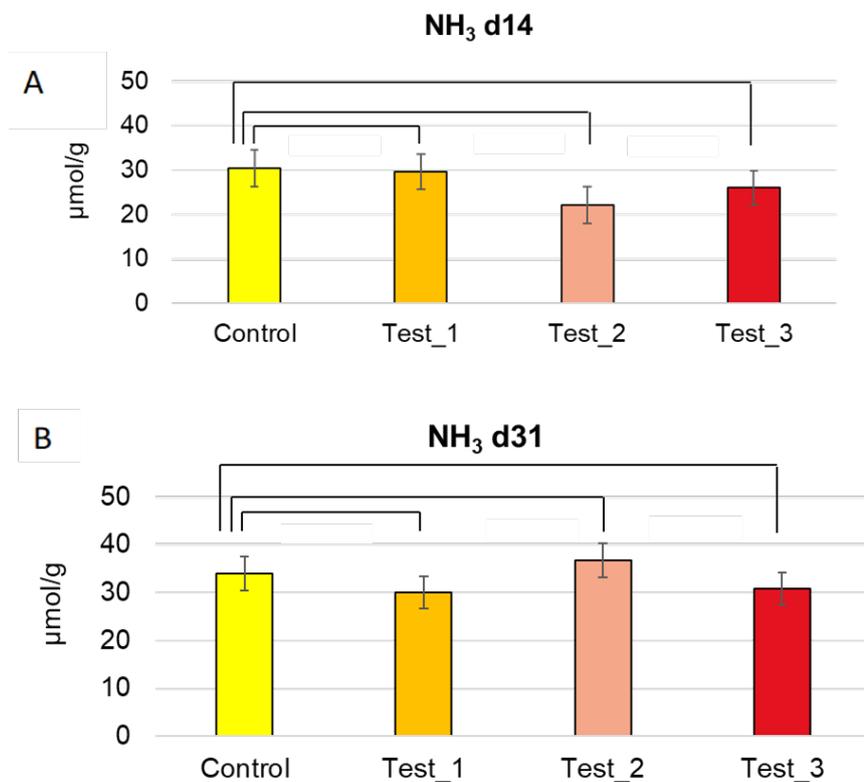


Figura 2. Concentrazione di ammoniaca nelle feci per quattro diversi gruppi dietetici (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) di suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 (A) e 31 (B)

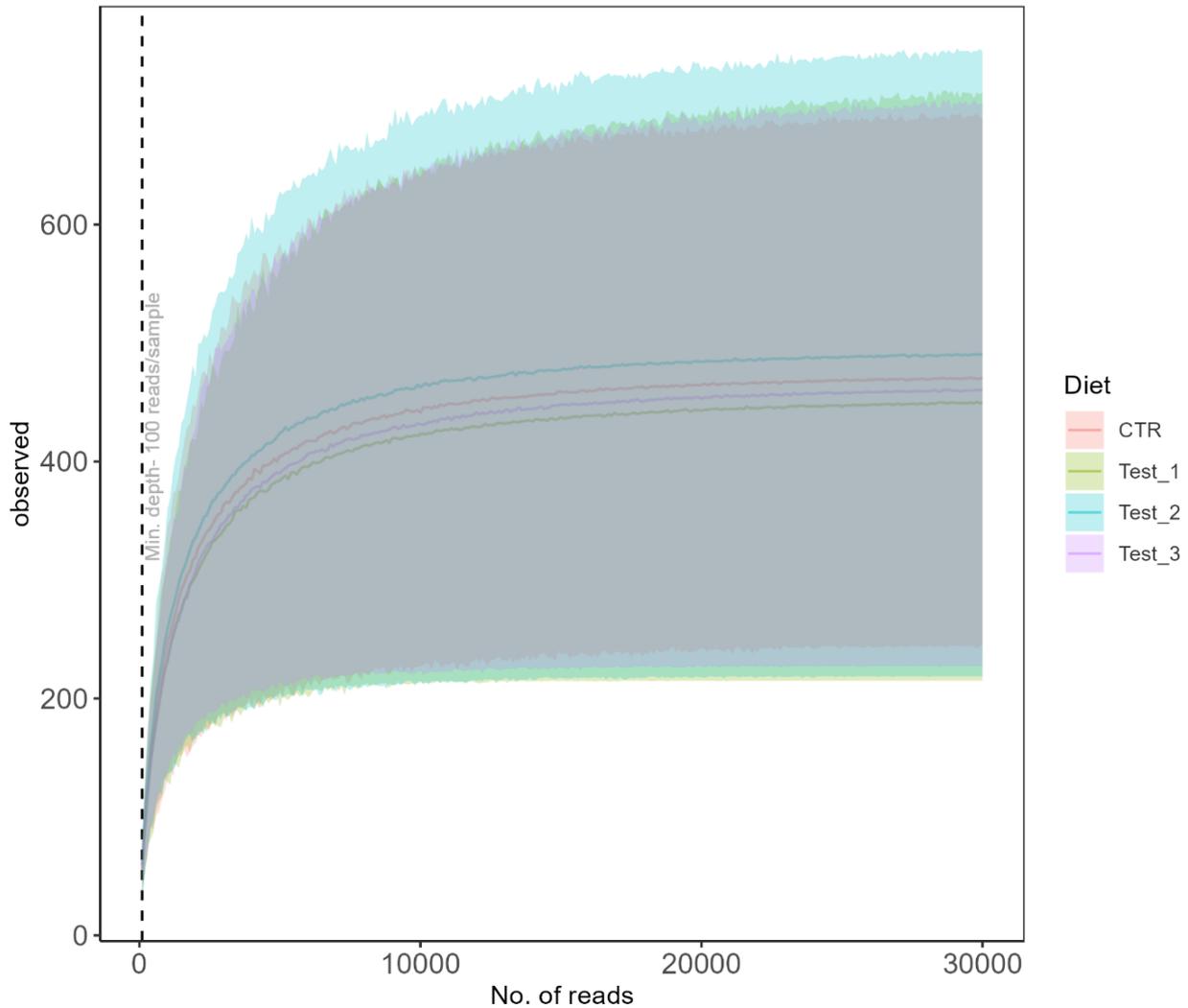


Figura 3. Curve di rarefazione che illustra il rapporto tra il numero di specie osservate e il volume di sequenze genetiche osservate per i diversi gruppi sperimentali

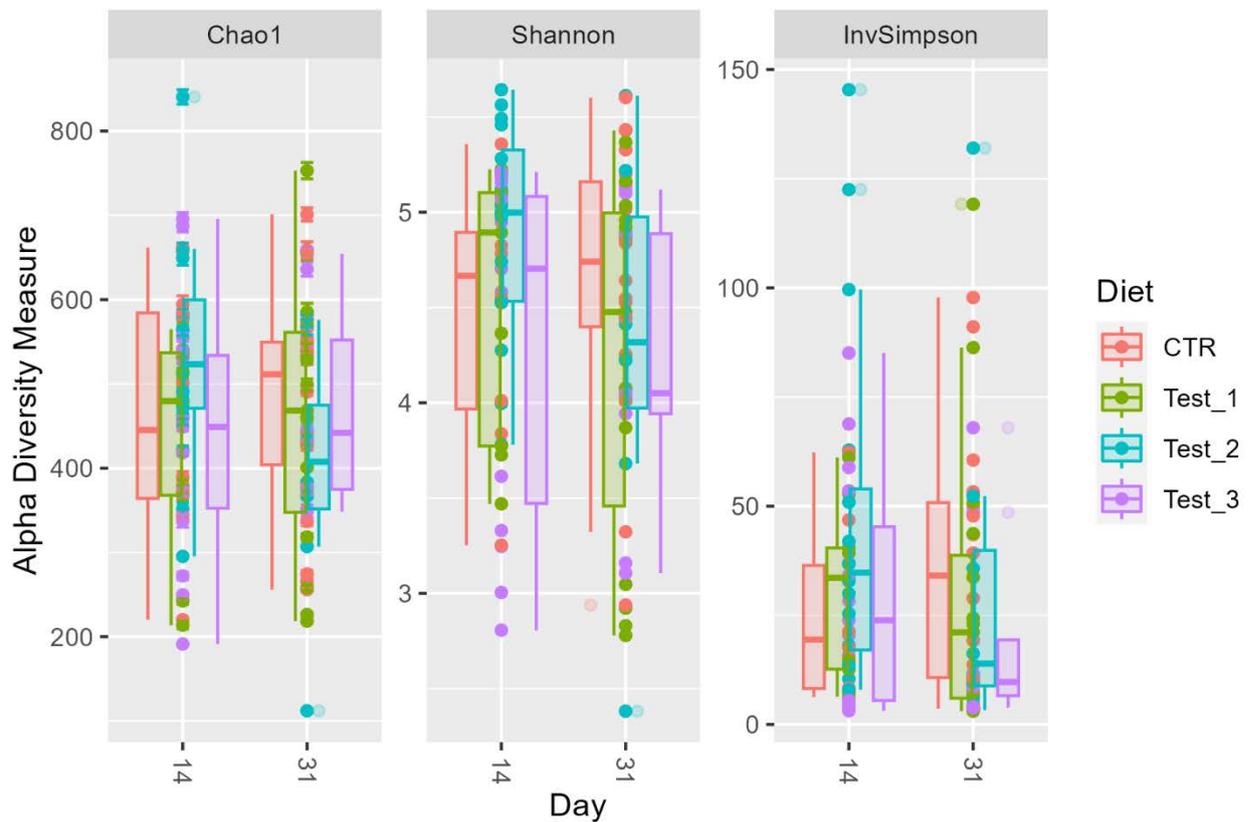


Figura 4. Boxplot che mostrano le misure di diversità alfa (Chao1, Shannon, Inverse Simpson) per quattro diversi gruppi dietetici (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) di suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 e 31

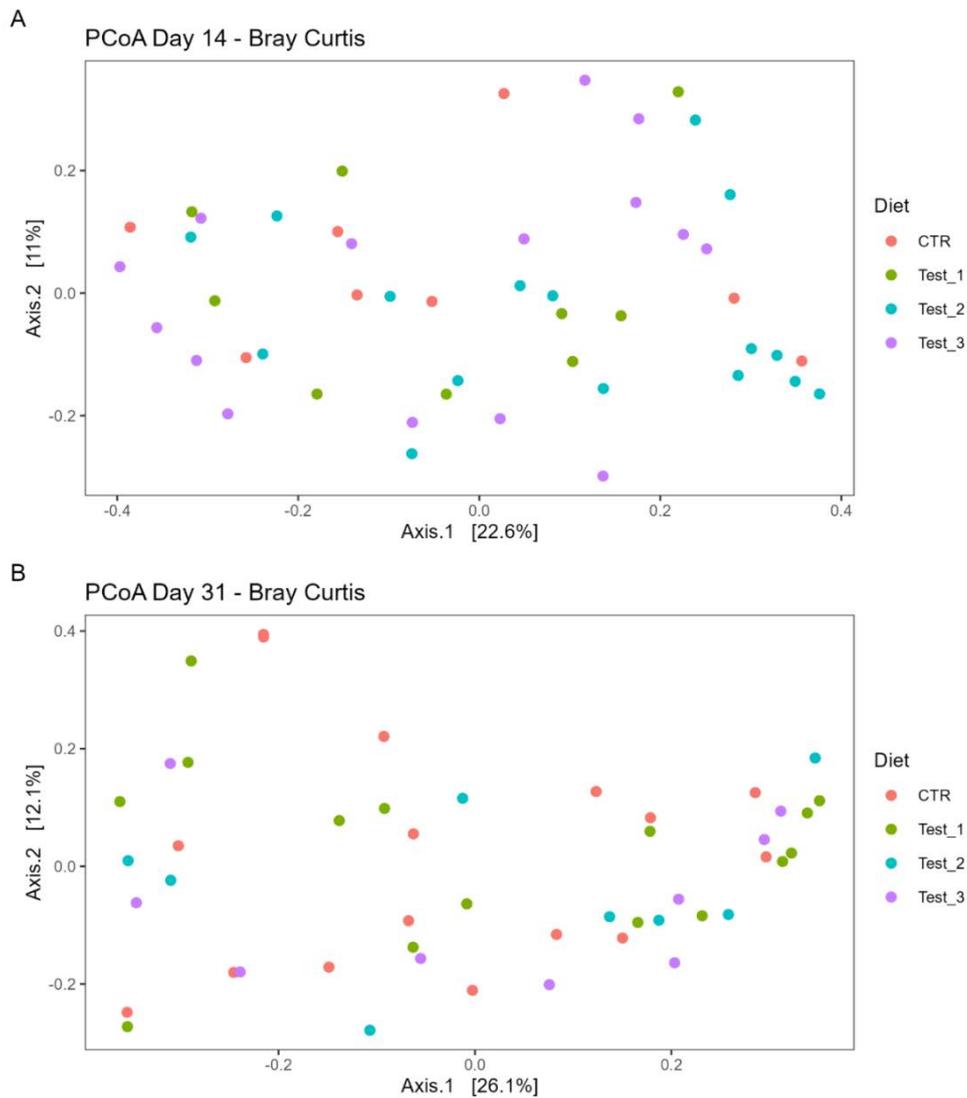


Figura 5. Analisi delle coordinate principali (PCoA) basata sulla matrice di distanza Bray-Curtis per valutare le differenze nella composizione della comunità microbica tra quattro diete diverse (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) per suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 (A) e 31 (B)

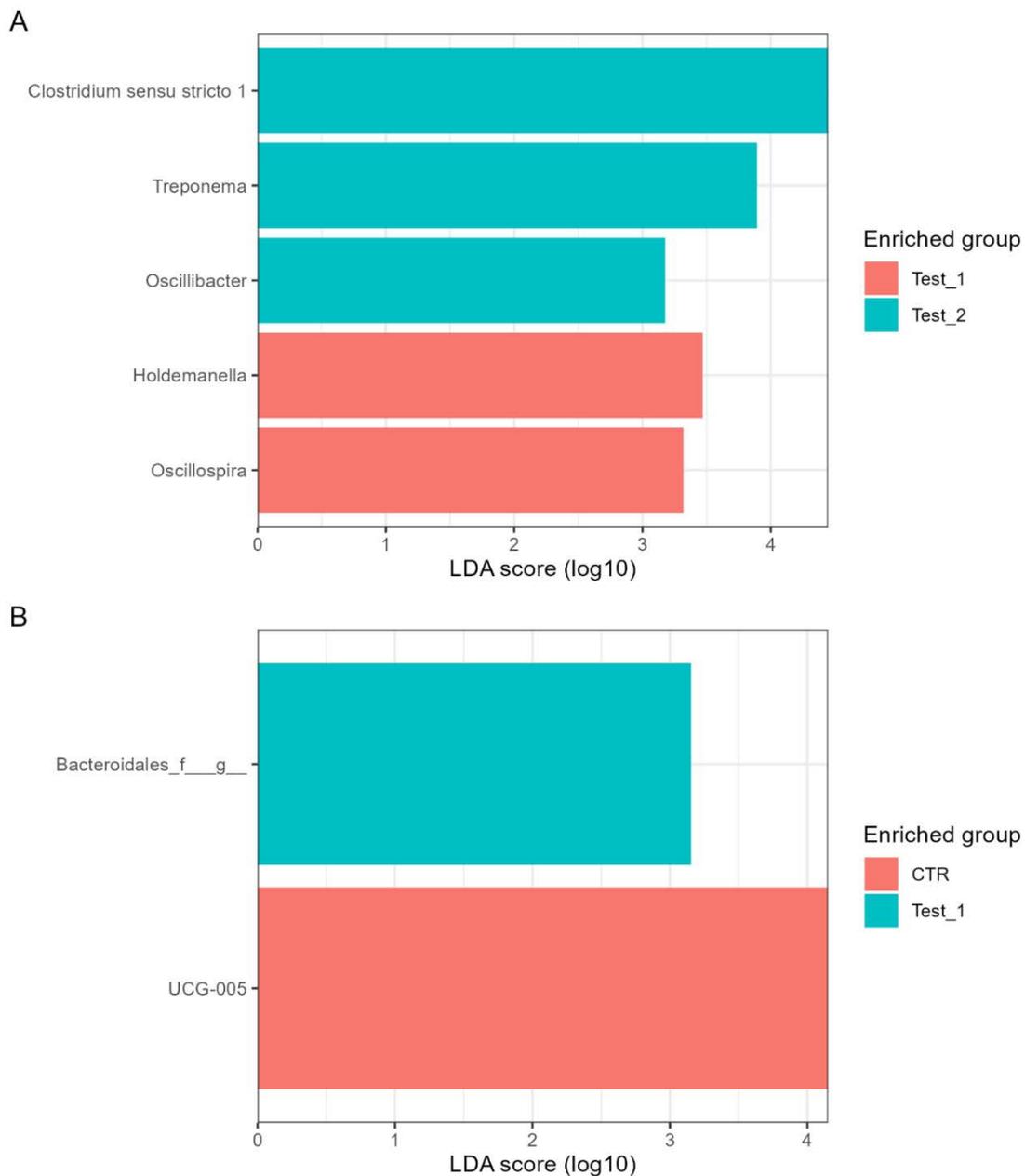
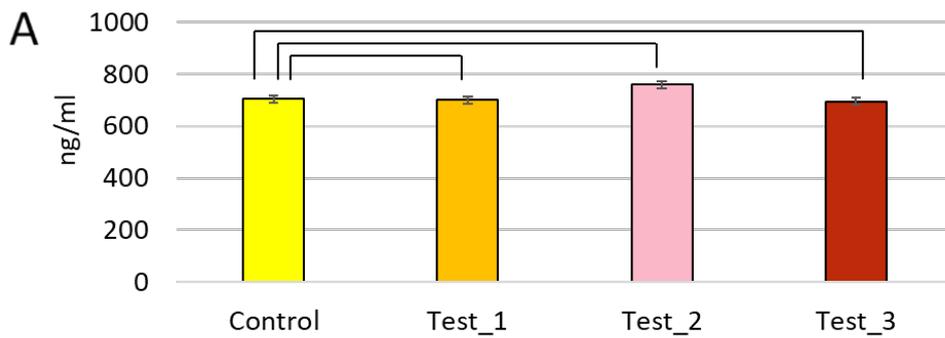


Figura 6. Analisi LEfSe per identificare i generi microbici significativamente arricchiti quattro diete diverse (CTR, Test_1, Test_2, Test_3) di suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 (A) e 31 (B).

Calprotectina d14



Calprotectina d31

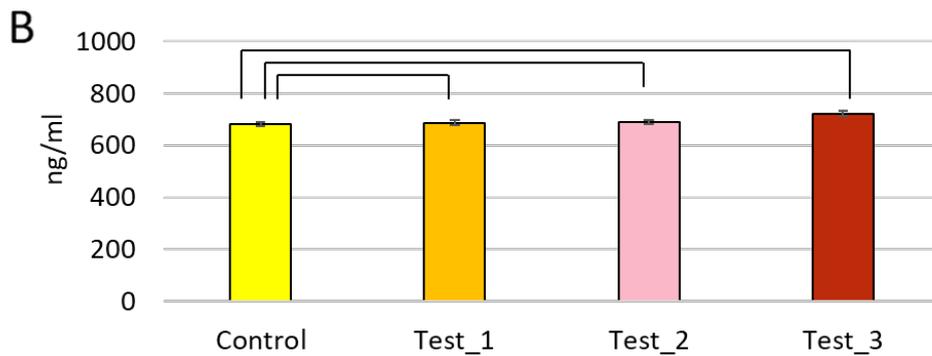


Figura 7. Concentrazione di calprotectina nelle feci dei suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 (A) e 31 (B)

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

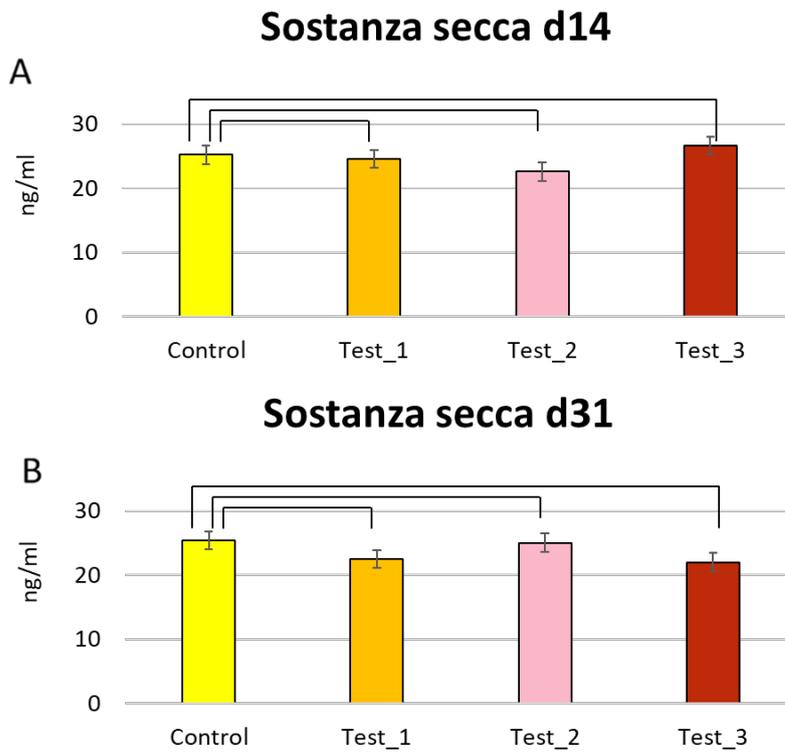


Figura 8. Sostanza secca nelle feci dei suini nel periodo post-svezzamento nei giorni 14 (A) e 31 (B).

AZIONE 3

Effetto della parziale sostituzione della soia e della riduzione della quota proteica in una dieta da ingrasso

Prof. Paolo Trevisi

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

Introduzione

La sostenibilità ambientale e la riduzione delle emissioni legate alla zootecnia rappresentano, insieme all'antibiotico resistenza, le sfide principali per la zootecnia dei prossimi anni. Si osserva infatti una crescente attenzione ai criteri di produzione delle carni suine. Questa sensibilità si sta inevitabilmente riverberando sul sistema produttivo, che deve dotarsi di strategie volte a mitigare l'effetto della zootecnia intensiva sull'ambiente, ottimizzando l'utilizzo degli input produttivi (scelta delle materie prime, efficienza, uso prudente delle sostanze antimicrobiche). Definire delle diete a ridotto tenore proteico, insieme all'utilizzo di materie prime a minore impatto ambientale durante tutta la fase produttiva, sono aspetti di importanza strategica per aumentare la sostenibilità ambientale, sociale ed economica dell'intera filiera suinicola, ed aprire nuove prospettive di mercato per i prodotti a base di carne suina.

Nella produzione di carne suina, il mangime è indicato come il principale responsabile degli impatti ambientali (Reckmann et al., 2016) di questo sistema produttivo pesando per circa il 76%, per le perdite totali di azoto (Uwizeye et al., 2019). Le diete destinate ai suini sono comunemente basate sulla presenza di soia e grano. Per la soia, circa l'80% della produzione mondiale viene impiegata in alimentazione animale (Thrane et al., 2017). Nel 2019-2020, la farina di soia è stata la principale fonte proteica vegetale utilizzata per l'alimentazione del bestiame nell'Unione Europea (SBM; 30 milioni di tonnellate), seguita dalla farina di colza (RSM; 13 milioni di tonnellate) e dalla farina di semi di girasole (SFM; 8 milioni di tonnellate). La maggior parte della farina di semi di soia è importata, come tale o ottenuta dalla frantumazione di semi di soia non comunitari. Il principale esportatore di soia nel 2021/2022 è stato il Brasile, seguito da Stati Uniti e Argentina. Negli ultimi decenni, questa notevole dipendenza dell'industria mangimistica europea da ingredienti proteici non provenienti dall'UE ha sollevato preoccupazioni (Lannuzel et al., 2022). Inoltre, la coltivazione della soia in Brasile è associata alla deforestazione; quest'ultima porta a massicce emissioni di gas serra, così come il trasporto della soia in Europa contribuisce alle emissioni (Wilke et al., 2023). Sulla base di questi fattori, Skoufos (2014) sostiene che le diete a base di farina di soia abbiano il maggiore impatto ambientale per kg di carne suina prodotta. Per contro si deve comunque considerare che la farina di estrazione di soia ha un eccellente equilibrio di aminoacidi essenziali ed una bassa concentrazione di fibra aspetti che devono essere sommati alla sua economicità rispetto ai prodotti di origine animale (Wang et al., 2011). Dal punto di vista ambientale, pare quindi che la riduzione della soia nell'alimentazione del suino allevato nella UE, possa contribuire a ridurre l'impatto ambientale per kg di carne prodotta, seppure il dibattito resti aperto, così come le problematiche nutrizionali. In tale direzione, lo studio condotto da Reckmann et al. (2016), ha evidenziato la fattibilità di sostituire, in parte, la soia utilizzando fonti proteiche locali il cui profilo aminoacidico può essere corretto con l'uso di aminoacidi di sintesi e ciò pare possa ridurre sensibilmente l'impatto ambientale delle formule. Gli aspetti descritti fino ad ora, sono in sinergia con le richieste della società. Infatti, un sondaggio pubblicato su Eurobarometro nel 2023 ha evidenziato come i cittadini della UE hanno come priorità il benessere animale e la protezione dell'ambiente, confermando che

la qualità etica dei prodotti di origine animale è pressoché alla pari della qualità organolettica. Questo aspetto è confermato anche dai dati del sondaggio eseguito da Grunert et al. (2018) in merito alle preferenze di acquisto dei cittadini UE.

Dal punto di vista nutrizionale, vi sono evidenze sulla possibilità di ridurre la quota di inclusione della soia nelle diete per suini. Tra le materie prime più promettenti ed autorizzate per la DOP del prosciutto di Parma, il pisello ed il girasole sembrano essere le più interessanti. Per quel che riguarda il pisello, viene impiegato con cautela in Italia per i timori legati alla presenza di vari fattori antinutrizionali, ed il basso contenuto in amminoacidi solforati (Hanczakowska e Świątkiewicz, 2014). Infatti, il contenuto in percentuale di metionina è pari allo 0.18% nel pisello rispetto allo 0.65% della soia (Smith et al., 2013). Ad ogni modo, l'uso di pisello come fonte proteica alternativa nelle diete dei suini è stato preso in considerazione da tempo, anche se le prime evidenze hanno indicato che livelli di inclusione superiori al 20% possono ridurre le prestazioni di crescita (Smith et al., 2013). Allo stesso modo, anche la farina di girasole, rispetto a quella di soia, ha tipicamente contenuti inferiori di proteine e lisina digeribili e maggiori contenuti di fibra (Lannuzel et al., 2022). Anche se, tra le farine proteiche, diverse dalla farina di estrazione di soia, la farina di girasole presenta i valori più elevati per la digeribilità della proteina grezza. La digeribilità media degli aminoacidi è elevata (89%) e paragonabile a quella della farina di estrazione di soia (90.6%), presenta un contenuto più elevato di aminoacidi solforati e soprattutto di metionina rispetto ad altre fonti proteiche ed è una buona fonte di calcio, fosforo e vitamine B. Inoltre, in suini alimentati con diete contenenti farina di girasole nella fase d'ingrasso, è stato rilevato un profilo in acidi grassi del tessuto adiposo caratterizzato da un contenuto maggiore di PUFA rispetto a quello di suini con diete senza tale materia prima (Skoufos, 2014). Questo aspetto deve essere valutato con attenzione nelle produzioni DOP dei prosciutti nazionali.

Dunque, basandoci sulla letteratura, abbiamo ipotizzato di ridurre il livello di soia nelle diete per il suino, attraverso l'impiego di girasole e pisello ed un accurato bilanciamento del profilo aminoacidico delle diete, senza conseguenza sulle performance di crescita e sulle caratteristiche della carcassa e della carne, in funzione del disciplinare della DOP del prosciutto di Parma.

Obiettivo

L'obiettivo del presente studio è stato quindi di testare l'effetto di una dieta basata sul concetto della parziale sostituzione della soia con fonti proteiche locali (nazionali e/o comunitarie) da impiegare nella fase di ingrasso del suino pesante, rispettando le prescrizioni del disciplinare della DOP del prosciutto di Parma, valutandone quindi l'effetto sulle performance di crescita e sulla qualità organolettica e tecnologica della carne.

Materiali e metodi

Disegno sperimentale e diete

Lo studio è stato condotto presso il sito 3 del Gruppo Martini Azienda Agricola Torto di Carmagnola (TO) e finanziato nell'ambito del PSR dell'Emilia-Romagna. Venerdì 03 febbraio 2023 (d0), 1930 suini a coda non tagliata sono stati accasati presso l'allevamento. Nel Capannone 1 sono stati accasati 930 animali dal peso medio di 36.19 Kg, costituendo il gruppo di controllo (CO) e che hanno quindi ricevuto la normale dieta formulata dal gruppo Martini per questa fase di allevamento, caratterizzata dall'utilizzo di farina di estrazione di soia come principale fonte proteica. Nel Capannone 2, a costituire il gruppo ricevente la dieta a basso contenuto di soia (TRT), sono stati accasati 1000 animali, con peso medio pari a 35.04 Kg.

I due capannoni erano pressoché identici, sia come dimensioni, sia in termini di allestimenti. Ciascun capannone era equipaggiato con 48 box di uguali dimensioni (8.07 metri di lunghezza e 2.53 metri di larghezza), per un totale di 20.42 m² a disposizione degli animali presenti nel box. Le misurazioni sono state effettuate con un Laser Distance Meter (Extech DT40M, Nashua, NH, USA). Entrambi i capannoni presentavano un sistema di ventilazione naturale. In ogni box sono stati accasati 21 animali, ad eccezione del box (6a), dove sono stati accasati 20 suini. In ogni box erano presenti due arricchimenti ambientali: un tronchetto di legno morbido ed una catena in acciaio. I box presentavano pavimento in cemento completamente grigliato. All'interno del box era presente un abbeveratoio a nipple ed una mangiatoia della lunghezza pari al lato lungo del box stesso, che equivaleva a 0.40 m/suino di fronte mangiatoia a disposizione.

Ciascun capannone era munito di 24 valvole, ed ognuna alimentava due box contigui. In virtù del sistema di distribuzione dell'alimento, per quanto riguarda il consumo alimentare e l'indice di conversione alimentare, due box adiacenti sono stati considerati come un'unità sperimentale, costituita dunque da 42 animali. Mentre, per gli altri parametri, l'unità sperimentale equivale al singolo box.

Tutti gli animali hanno seguito lo stesso piano alimentare, formulato dal Gruppo Martini in accordo con il professore Paolo Trevisi dell'Università di Bologna seguendo le prescrizioni del disciplinare del prosciutto di Parma. Tale piano alimentare è indicato con la dicitura "prestabilito" nelle tabelle riportate di seguito. Nel dettaglio, tutti i suini del Capannone 1 hanno ricevuto la dieta standard adottata dal Gruppo Marini per la fase d'ingrasso (CO), mentre tutti i suini del Capannone 2 hanno ricevuto una dieta in cui parte della soia è stata sostituita con pisello proteico e farina di girasole (TRT). Per entrambi i gruppi, il piano alimentare ha previsto tre fasi di alimentazione, volte a coprire i fabbisogni nei diversi stadi di crescita degli animali. La dieta della Fase 1, identificata dal codice L31, è stata somministrata dal d0 al d28. In **Tabella 1** e **Tabella 2** sono riportate rispettivamente gli ingredienti impiegati ed il profilo nutrizionale stimato ed analizzato della dieta L31 sia per il gruppo CO, sia per il gruppo TRT.

La **Tabella 3**, invece, riporta nel dettaglio la composizione amminoacidica delle diete, sia quella attesa basata sulle formulazioni, sia quella reale basata sulle analisi svolte dal Gruppo Martini sui campioni raccolti in allevamento. Nelle tabelle di seguito, tali dati vengono anche messi a confronto con i fabbisogni amminoacidici riportati da NRC (2012) per classi di peso simili.

La dieta della Fase 2, identificata dal codice formula M91, è stata somministrata dal d28 al d94. La **Tabella 4** e la **Tabella 5** riportano rispettivamente gli ingredienti impiegati ed i profili nutrizionali stimati ed analizzati della dieta M91 per il gruppo CO e per il gruppo TRT.

Mentre, la **Tabella 6** riporta nel dettaglio la composizione amminoacidica delle diete, sia quella attesa basata sulle formulazioni, sia la reale basata sulle analisi svolte dal Gruppo Martini sui campioni raccolti in allevamento. Tali dati vengono anche messi a confronto con i fabbisogni amminoacidici riportati da NRC (2012) per classi di peso simili.

La dieta della Fase 3, identificata dal codice formula M121, è stata somministrata dal d95 al d184. La **Tabella 7** e la **Tabella 8** riportano rispettivamente gli ingredienti impiegati ed i profili nutrizionali stimati ed analizzati della dieta M121 per il gruppo CO e per il gruppo TRT.

Mentre, la **Tabella 9** riporta nel dettaglio la composizione amminoacidica delle diete, sia quella attesa basata sulle formulazioni, sia la reale basata sulle analisi svolte dal Gruppo Martini sui campioni raccolti in allevamento. Tali dati vengono anche messi a confronto con i fabbisogni amminoacidici riportati da NRC (2012) per classi di peso simili.

Rilevamenti e campionamenti

Al d11 post accasamento, il personale UNIBO, coadiuvato dal personale del Gruppo Martini, ha selezionato 125 soggetti dal gruppo TRT e 126 dal gruppo CO. A questi 251 animali è stata apposta una marca auricolare numerata per identificarli, sono stati pesati individualmente, e sono stati suddivisi in dodici box, sei nel capannone 1 e sei nel capannone 2 (**Figura 1**).

Tra i suini identificati con marca auricolare numerata è stato creato un ulteriore sottogruppo di quarantotto soggetti (24 suini/trattamento) da cui nel d11, d94 e d181 sono stati prelevati campioni di feci per l'analisi del microbiota e per misurare il contenuto in ammoniaca e acidi grassi volatili. Nelle stesse giornate di campionamento gli animali sono stati pesati individualmente. Inoltre, per effettuare la determinazione del cortisolo in modo non invasivo, gli stessi soggetti sono stati rasati sul dorso. Infatti, rasando gli animali al d11 è stato poi possibile assicurare la raccolta di sole setole in crescita nei campionamenti successivi, ovvero in corrispondenza del cambio dieta al d94 e al d181 (prima dell'invio al macello). In questo modo, il dosaggio del cortisolo quale marcatore di stress cronico a partire dalle setole è riconducibile ad un determinato intervallo temporale.

Inoltre, su tutti gli animali con marca auricolare, sono stati effettuati rilevamenti comportamentali e rilevamenti riguardanti le lesioni a coda ed orecchie, entrambi adattando i protocolli Welfare Quality® e Classyfarm®.

In particolare, per la valutazione delle lesioni alla coda e alle orecchie è stato utilizzato un punteggio da 0 a 2. Successivamente, il risultato è stato espresso come la prevalenza dei punteggi ottenuti. È stato quindi calcolato un indice di punteggio delle lesioni (LSI), che considerava sia la frequenza sia la gravità delle lesioni, come suggerito da Vitali e collaboratori (2021).

I rilievi comportamentali sono stati effettuati sempre tra le 8:00 e le 11:00 del mattino, quando gli animali erano per lo più attivi, mediante l'osservazione diretta di tutti gli animali in ogni box; come descritto da Palumbo e colleghi (2023). L'osservazione è stata effettuata cinque volte per ogni box, con due minuti di pausa tra un'osservazione e l'altra. Le osservazioni erano volte a raggruppare tutti gli animali presenti nel box sulla base del comportamento attuato. In particolare, i comportamenti osservati sono categorizzati da Welfare Quality (2009) come descritto di seguito: interazioni sociali, comportamento esplorativo, comportamento inattivo o di riposo e altro comportamento. Il comportamento sociale consisteva in un comportamento "negativo", come mordere o qualsiasi comportamento sociale aggressivo che provocasse una risposta da parte dell'animale disturbato, oppure in un comportamento "positivo", come annusare, leccare, giocare e allontanarsi delicatamente dagli altri animali senza alcuna reazione aggressiva o di lotta. Il comportamento esplorativo consisteva nell'"esplorare il recinto", quindi annusare, leccare e nell'"esplorare il materiale di arricchimento". Il comportamento inattivo è stato registrato come "riposo" quando l'animale coinvolto nell'osservazione non mostrava alcun comportamento sociale o esplorativo, ma era semplicemente sdraiato, mentre negli altri comportamenti sono stati registrati tutti i comportamenti attivi non inclusi nelle categorie precedenti. Inoltre, è stato osservato il comportamento di "suzione", definito come il succhiare qualsiasi parte anatomica di un altro suino come se stesse succhiando il latte. La frequenza di ciascun comportamento è stata poi espressa come percentuale della media delle cinque osservazioni.

In seguito, con cadenza mensile sono stati rilevati i parametri ambientali nei dodici box selezionati. In particolare, i dati raccolti sono stati i seguenti: intensità della luce, CO₂, NH₃ e H₂S. L'intensità luminosa e la percentuale di gas sono state registrate all'altezza dei suini (circa 50 cm di altezza) considerando tre diversi punti: l'angolo destro del box, il centro del box e l'angolo sinistro del box. Successivamente è stata calcolata la media delle tre misure. L'intensità luminosa è stata rilevata utilizzando il Mini Light Meter (UNI-T UT383, Dongguan City, China), mentre la percentuale di gas è stata registrata mediante il Dräger X-am® 8000 multi-gas detector (Drägerwerk AG & Co, Lübeck, Germany).

Con cadenza mensile, nei 12 box selezionati sono stati ripetuti i rilevamenti comportamentali e delle lesioni. Inoltre, si è deciso di intensificare i campionamenti, rilevando lo stato di salute degli animali,

i comportamenti ed i gas a dieci giorni dai cambi di dieta così da poter evidenziare eventuali ripercussioni correlate al cambio dieta. In **Tabella 10** sono riportati nel dettaglio il timepoint e la tipologia di campionamento svolti.

Durante tutto il periodo di permanenza dei suini in sito 3, le mortalità sono state registrate quotidianamente. Mentre, i consumi sono stati registrati mensilmente, in concomitanza dei campionamenti e dei rilevamenti svolti presso l'allevamento.

Al termine della fase d'ingrasso tutti i suini presenti nell'allevamento sono stati macellati presso il macello del Gruppo Martini e hanno seguito il piano di analisi previsti nell'**Azione 4**. In particolare, al d184 tutti i suini con marca auricolare sono stati caricati per l'invio al macello. Per il primo camion, contenente i 114 animali appartenenti al gruppo CO, si è registrato un peso pari a 20200 kg. Mentre il secondo camion, contenente i 113 animali facenti parte del gruppo TRT, registrava un peso pari a 19900 kg. Gli animali in questione sono stati macellati il 07/08/2023 direttamente dopo lo scarico.

Estrazione di DNA batterico e sequenziamento

Il DNA batterico totale è stato estratto dai campioni fecali utilizzando il kit di estrazione FastDNATMSpin 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 V3TV4 del gene 16S rRNA su piattaforma Illumina Miseq.

Analisi dell'ammoniaca dalle feci

Per la determinazione dell'ammoniaca, i campioni di feci sono stati scongelati e 1 g di feci è stato diluito in un rapporto peso/volume di 1:10 con acqua deionizzata. Dopo aver agitato i campioni al vortex, sono stati centrifugati per 10 minuti a 7000 rpm a 4 °C. L'ammoniaca fecale è stata determinata mediante un saggio enzimatico colorimetrico sul surnatante, seguendo il protocollo del produttore (Urea/BUN-Color; BioSystems S.A., Barcellona, Spagna), e i dati sono stati espressi come $\mu\text{mol/g}$ feci.

Analisi degli acidi grassi volatili dalle feci

L'analisi degli acidi grassi volatili (acetato, propionato, isobutirrato, butirrato, valerato, isovalerato) delle feci dei suini è stata effettuata e adattata secondo il metodo di Sandri et al. (2017), utilizzando 5 ml di soluzione acquosa di H_2SO_4 0.1 N per diluire 1 g di campione di feci.

Analisi del cortisolo e del deidroepiandrosterone (DHEA) nelle setole mediante radioimmunoassay (RIA)

I campioni di setole raccolti sono stati sottoposti al processo di lavaggio ed estrazione di seguito descritti, prima delle analisi vere e proprie. Il protocollo di lavaggio dei campioni ha previsto un primo lavaggio del campione fresco o conservato a 4°C, in un becker con acqua distillata (10 ml ogni 50 mg) con l'aiuto di una pinza per rimuovere le impurità. Tale lavaggio viene ripetuto due volte qualora i campioni siano molto sporchi. I campioni vengono poi lasciati asciugare per almeno 12 ore in carta assorbente. Dopo di che, sotto cappa chimica, il campione asciutto viene predisposto in una falcon da 50 ml e si aggiunge isopropanolo (5 ml ogni 250 mg di campione). Il campione chiuso viene messo in bilancia per tre minuti. In seguito, sotto cappa chimica, viene rimosso e smaltito il surnatante prima di ripetere il lavaggio con isopropanolo. Infine, la falcon col campione viene lasciata per almeno 12 ore aperta sotto cappa chimica per far evaporare tutto l'isopropanolo. Si procede in seguito con il protocollo di estrazione, che prevede in prima istanza il posizionamento del campione asciutto all'interno di un mortaio, nel quale viene aggiunto azoto liquido, per poi iniziare a polverizzare il campione con l'aiuto di un pestello. La polvere viene divisa in un'aliquota di 120 mg e un'altra aliquota con la parte rimanente. L'aliquota di 120 mg viene raccolta in una falcon da 15 ml dove viene poi aggiunto il metanolo (2 ml ogni 60 mg di campione). Il campione viene chiuso, parafilmato, agitato e posto in bilancia overnight. Si procede in seguito con la centrifuga del campione per almeno 30 minuti. Il surnatante è stato quindi raccolto sotto una cappa di aspirazione e asciugato prima di essere sottoposto al test radioimmunologico. Gli estratti essiccati sono stati ricostituiti in tampone di dosaggio (soluzione fisiologica tamponata con fosfato, 0,1% BSA, pH 7.4) per la misurazione del cortisolo (6 mg di setole equivalenti) e del DHEA (4 mg di setole equivalenti) mediante radioimmunoassay (RIA) come precedentemente descritto rispettivamente da Bacci e colleghi (2014) ed Elmi e colleghi (2020).

Analisi statistica

Analisi statistiche e descrittive sono state effettuate tramite l'utilizzo del software R. I dati riguardanti le performance individuali (peso vivo ed IPG) dei suini sono stati analizzati tramite la funzione "lmer" del pacchetto lme4 ed utilizzando un modello cosiddetto "linear mixed-effects". I fattori fissi considerati sono stati il trattamento dietetico ed il sesso, mentre il fattore random è stato il box. Lo stesso tipo di funzione è stata usata per le performance dei box tra cui consumi, G:F e mortalità. Infine, per la concentrazione di metaboliti nell'aria legati all'impatto ambientale come NH₃ e CO₂, quest'ultimi sono stati analizzati tramite la funzione "lmer" del pacchetto lme4 ed utilizzando un modello a "misure ripetute". Pertanto, il box è stato considerato come unità sperimentale, mentre i fattori fissi sono stati il trattamento dietetico, il giorno di rilevazione e l'interazione tra il trattamento dietetico e il giorno di rilevazione.

Per quanto riguarda le analisi dei dati relativi al microbiota intestinale per l'analisi di bioinformatica è stata utilizzata la pipeline DADA2 (Callahan et al., 2016) e la tassonomia è stata assegnata usando come riferimento il Database Silva (release 138.1) (Quast et al., 2013). Le analisi statistiche sugli indici di alfa diversità (indici di ricchezza microbica: Chao, Shannon e InvSimpson) e beta diversità (dissimilarità batterica tra diversi campioni calcolata attraverso la costruzione di una matrice di distanza Bray Curtis) e composizione tassonomica sono state effettuate con software R v4.3, utilizzando i pacchetti PhyloSeq (McMurdie and Holmes, 2013), Vegan (Dixon, 2003), lme4 (Bates et al., 2015). Per gli indici di alfa diversità è stato impiegato un modello lineare misto. I fattori fissi considerati sono stati il trattamento dietetico, il sesso ed i tempi di campionamento mentre il singolo animale è stato incluso come fattore random. Per quanto riguarda l'analisi della diversità beta è stato utilizzato un modello statistico permanova (test di Adonis) con 9.999 permutazioni. Come fattori nel modello sono stati inclusi la dieta e il tempo di campionamento. L'interazione tra dieta e tempo è stata testata sia per i parametri di alfa che di beta diversità ma non è mai risultata significativa e pertanto è stata rimossa dal modello. Per visualizzare la dissimilarità dei campioni per dieta e tempo la matrice di distanza Bray-curtis è stata utilizzata per generare un grafico utilizzando l'analisi delle coordinate principali (PcOA). L'analisi delle componenti principali è una tecnica statistica multivariata che ha come obiettivo la riduzione del numero di colonne di un dataset. La tecnica permette infatti di individuare le principali variabili correlate tra loro diminuendo la dimensione del dataset perdendo la minor quantità possibile di informazioni.

Per individuare specifici marcatori microbiologici caratterizzanti delle due diete è stato in seguito applicato l'algoritmo dell'analisi discriminante lineare (LDA) della dimensione dell'effetto a livello di genere. I generi con un punteggio LDA > 3 e un P. adj < 0,05 sono stati considerati significativi.

Risultati

Performance dei suini con marca auricolare

In **Tabella 11** sono riportati i dati riferiti alle prestazioni di crescita dei suini selezionati. La dieta non ha influenzato il peso degli animali in prova in nessuno dei tre rilevamenti di tale parametro. A differenza del sesso che ha un effetto significativo ($P=0.002$), sempre a favore degli animali di genere maschile. Per quanto riguarda l'IPG, la dieta ha mostrato un effetto significativo a favore del gruppo TRT nel periodo d94-d181 ($P=0.01$). Si evidenzia, che al d94, non è stato possibile pesare tutti gli animali a causa del caldo eccessivo per cui si considera più affidabile il dato riguardante il periodo d11-d181, in cui comunque la dieta impatta significativamente sul dato ($P=0.04$), e sempre a favore del gruppo TRT. Come per il peso, anche nel caso dell'IPG il sesso rappresenta una variabile rilevante ($P=0.01$) e anche in questo caso a favore degli animali di sesso maschile che presentano un IPG maggiore.

In **Tabella 12** sono riportati i dati riferiti al consumo di alimento, all'efficienza alimentare ed al numero di soggetti esclusi dalla prova per mortalità o cause sanitarie. I suini del gruppo TRT hanno mostrato un consumo alimentare maggiore durante il primo periodo di alimentazioni rispetto al gruppo CO ($P=0.004$). Mentre nella seconda e terza fase di alimentazione l'ingestione è stata superiore nel gruppo CO ($P<0.0001$).

Per quanto riguarda il rapporto G:F, la dieta ha mostrato un effetto significativo a favore del gruppo CO nella prima fase ($P=0.007$) mentre il gruppo TRT è risultato favorevole dal d94 al d181 ($P=0.001$) e nel periodo complessivo d11-d181 ($P=0.01$). Il dato di mortalità ed esclusione non mostra differenze significative tra le diete.

Microbiota fecale

Il DNA batterico da campioni fecali è stato estratto e amplificato con successo da un totale di 120 campioni. Dopo il controllo di qualità, il totale delle sequenze ottenute è stato 3.924.264, con una media di 32.702 sequenze per campione. Tale sequenze hanno portato alla definizione di 2.880 varianti microbiche. In **Figura 2** sono mostrate le curve di rarefazione dei singoli campioni. Si può notare come le curve dei singoli campioni raggiungano un andamento a plateau indicando che la procedura di sequenziamento è stata in grado di catturare tutta la variabilità presente nei campioni.

Tra le 2.880 varianti microbiche identificate sono stati identificati 16 phyla, 68 famiglie e 160 generi. I phyla più abbondanti (media e DS) sono stati Firmicutes $87,06 \pm 7,02\%$, Bacteroidota $9,38 \pm 5,82\%$ e Spirochaetota $1,66 \pm 1,76\%$. Le famiglie più abbondanti sono state Clostridiaceae $36,44 \pm 16,53\%$, Lactobacillaceae $19,16 \pm 12,82\%$, Peptostreptococcaceae $7,33 \pm 4,22\%$ ed Erysipelotrichaceae $3,99 \pm 4,88\%$. I generi più rappresentati sono stati Clostridium_sensu_stricto_1 $37,8 \pm 17,06\%$, Lactobacillus $20,45 \pm 13,45\%$, Terrisporobacter $5,93 \pm 3,48\%$ e Turicibacter $3,86 \pm 5,20\%$.

La **Figura 3A** mostra i valori degli indici di diversità Chao1, Shannon e InvSimpson per ciascuna dieta al d11, d94 e d181. L'interazione tra dieta e tempo, dieta e sesso non è mai stata significativa per nessuno degli indici alfa calcolati. Il tempo ha influenzato l'indice di Shannon ($P=0,03$; d11 vs d181, $3,61$ vs $3,29$; $P=0,04$) ed ha mostrato una tendenza per l'indice di InvSimpson ($P=0,06$; d94 vs d181, $10,8$ vs $8,0$; $P=0,06$). L'analisi del test Adonis sull'indice di diversità beta non ha mostrato alcun effetto dell'interazione tra dieta e tempo, della dieta e del sesso mentre è stato osservato un effetto significativo del tempo ($R^2=0,15$; $P=0,001$). La **Figura 3B** mostra il grafico della PcoA in cui sono identificabili i singoli campione rispetto alla prima e seconda componente principale. Osservando il grafico è possibile notare che non è presente alcun cluster dovuto alla dieta mentre si può osservare la clusterizzazione dei campioni dovuta al tempo.

Per identificare specifici marcatori batterici espressi in modo differenziale tra le diete, è stata condotta l'analisi della dimensione dell'effetto LDA ad ognuno dei tempi di campionamento. I risultati sono riportati in **Figura 4**. Al giorno 11, la dieta CO era caratterizzata da una maggiore

abbondanza del genere *Prevotella* (Punteggio LDA = 4.36, P adj. = 0.005) mentre la dieta TRT era caratterizzata da una maggiore abbondanza dei generi *Treponema* (punteggio LDA = 4.08, P adj. = 0.028), e UCG-008 appartenente al *Butyricoccus* (punteggio LDA = 4.03, P adj. = 0,002). Al d94, la dieta CO era caratterizzata da una maggiore abbondanza di *Romboutsia* (punteggio LDA = 3,58, P adj. = 0,04) e la dieta TRT era caratterizzata da una maggiore abbondanza di *Methanobrevibacter* (punteggio LDA = 3,87, P adj. = 0,013), *Mitsuokella* (punteggio LDA = 3,31, P adj. < 0,001) e Family_XIII_AD3011_group (punteggio LDA = 3,16, P adj. = 0,04). Al d181, solo un genere ha raggiunto un punteggio LDA superiore a 3; il genere *Bifidobacterium* (punteggio LDA = 3,17, P adj. = 0,04) che è risultato maggiore nella dieta CO. Altri generi hanno mostrato un P-value significativo ma un punteggio LDA \leq 3; la dieta CO ha mostrato una maggior abbondanza dei generi *Mitsuokella* (punteggio LDA = 2,87, P adj. = 0,03), *Solobacterium* (punteggio LDA = 2,77, P adj. = 0,01) e Lachnospiraceae_UCG-001 (punteggio LDA = 2,31, P adj. = 0,05) mentre la dieta TRT dei generi *Clostridium_sensu_stricto_2* (punteggio LDA = 3,00, P adj. = 0,001), *Colidextribacter* (punteggio LDA = 2,80, P adj. = 0,02), *Mycoplasma* (punteggio LDA = 2,29, P adj. = 0,013), *Phoceia* (punteggio LDA = 2,25, P adj. = 0,006), *Sphaerochaeta* (punteggio LDA = 1,96, P adj. = 0,03), Lachnospiraceae_UCG-010 (punteggio LDA = 1,89, P adj. = 0,04), Lachnospiraceae_NK3A20_group (punteggio LDA = 1,83, P adj. = 0,03) e *Dialister* (punteggio LDA = 1,73, P adj. = 0,04).

Ammoniaca fecale

In **Tabella 13** è riportata la concentrazione di ammoniaca (NH₃) presente nelle feci campionate al d11 e al d181. La tabella mostra come, a inizio ciclo non vi fosse una differenza significativa correlabile alla dieta bensì correlabile al sesso (P=0.01). Infatti, i soggetti di sesso maschile presentano una concentrazione di ammoniaca nelle feci più alta. Per quel che riguarda il secondo campionamento al d181, non vi sono differenze significative né legate alla dieta, né al sesso.

Acidi grassi volatili nelle feci

La **tabella 14** riporta la concentrazione degli acidi grassi nelle feci. La tabella mostra che l'interazione tra dieta e sesso ha influenzato la concentrazione fecale di acido acetico a d11 (P=0.009) e, all'interno del gruppo TRT, i suini maschi avevano una concentrazione fecale di acido acetico più elevata rispetto alle femmine (P=0.04). Allo stesso tempo, nel gruppo CO sono state osservate concentrazioni fecali più elevate di acido propionico (P=0.05) e butirrico (P=0.0005). Al d181, l'acido propionico tendeva a essere più alto nel gruppo TRT (P=0.09). L'acido butirrico è stato influenzato dall'interazione tra dieta e sesso (P=0.02) e la sua concentrazione era più bassa nelle femmine del gruppo CO rispetto alle femmine del gruppo TRT (P=0.05), ai maschi del gruppo CO (P=0.01) e ai maschi del gruppo TRT (P=0.03). Il sesso e la dieta non hanno influenzato la concentrazione fecale degli altri VFA.

Steroidi nelle setole

In **Tabella 15** è riportata la concentrazione di cortisolo presente nelle setole campionate al d94 e al d181. La tabella mostra l'assenza di differenza significativa correlabile alla dieta o al sesso in entrambi i periodi di riferimento.

Indici di comportamento e salute

In **Tabella 16** sono riportati gli indici di comportamento e di salute rilevati in allevamento sugli animali. Gli indici di salute riguardano le lesioni ad orecchie e coda e come precedentemente detto, sono espressi mediante LSI. Al d34 si evidenzia una tendenza ($P=0.06$) a favore del gruppo CO che presenta un LSI orecchie inferiore rispetto al gruppo TRT, sottintendendo una minore prevalenza/gravità delle lesioni alle orecchie. Al contrario per quel che riguarda le lesioni alla coda vi è una tendenza a favore del gruppo TRT ($P=0.07$), che presenta un LSI inferiore. Al d102 la dieta impatta significativamente ($P=0.03$) sull'LSI della coda, determinando un LSI maggiore per il gruppo CO. In tutti gli altri rilevamenti non si evidenziano differenze statisticamente significative i LSI dei due gruppi, né per le orecchie, né per le code.

Per quanto riguarda gli indici di comportamento, espressi come percentuale del valore medio di animali che attuano il comportamento in questione, si evidenzia una differenza significativa ($P<0.01$) correlata alla dieta al d11. In particolare, un numero maggiore di animali appartenenti al gruppo CO attua il comportamento di esplorazione del materiale manipolabile. Si evidenzia anche una tendenza ($P=0.08$) degli animali del gruppo CO a svolgere con più frequenza altre attività rispetto al gruppo TRT al d70. Infine, al d138 vi sono differenze significative ($P=0.04$) riguardanti la prevalenza delle interazioni sociali positive, che sono maggiori nel gruppo TRT; mentre una tendenza ($P=0.08$) mostra che un numero maggiore di animali appartenenti al gruppo CO attua il comportamento di esplorazione del materiale manipolabile. I risultati non mostrano altre differenze significative per gli indici di comportamento e di salute registrati nei vari rilevamenti.

Parametri ambientali

In **Tabella 17** sono riportati i parametri ambientali dei box selezionati. I dati evidenziano un effetto significativo del giorno di campionamento (timepoint), ma anche della dieta. Si è quindi valutato anche l'effetto dell'interazione tra timepoint. I rilevamenti della concentrazione di anidride carbonica (CO_2) evidenziano una differenza statisticamente significativa tra i due trattamenti, spiegabile sia dalla dieta ($P<0.0001$), sia dal timepoint ($P<0.0001$), sia dall'interazione tra i due fattori ($P<0.0001$). Differenze significative nella concentrazione di CO_2 tra i box del CO e i box del TRT sono emerse anche tra alcuni dei dati raccolti nei singoli rilevamenti, come ad esempio al d11, d34 e d70. Anche nel caso dell'ammoniaca (NH_3) i risultati mostrano una differenza statisticamente significativa tra i due trattamenti, spiegabile sia dalla dieta ($P<0.0001$), sia dal timepoint ($P<0.0001$), sia dall'interazione tra i due fattori ($P<0.0001$). Inoltre, differenze significative nella concentrazione di NH_3 tra i box del CO e i box del TRT sono emerse anche tra alcuni dei dati raccolti nei singoli

rilevamenti, come ad esempio al d11, d27, d34 e d70. Si evidenzia inoltre, per entrambi i gas discussi, un andamento decrescente dal primo all'ultimo rilevamento.

Discussione

Il presente studio è stato condotto per valutare l'impatto di una dieta con un ridotto contenuto di farina di soia e un minore contenuto di proteine grezze nell'ultima fase alimentare su prestazioni, salute e benessere dei suini in crescita e ingrasso. È ben noto che l'uso della farina di soia come materia prima alimentare nelle diete dei suini può contribuire significativamente ad aumentare l'impatto ambientale, sia direttamente sia indirettamente, della filiera suinicola. Per affrontare questo problema, una strategia consiste nell'utilizzare la maggior parte dei mangimi locali, come la farina di girasole e di piselli, entrambi autorizzati per l'alimentazione degli animali destinati alla produzione di DOP. Considerando però che l'inclusione della farina di girasole nella dieta dei suini da ingrasso può determinare un contenuto più elevato di acidi grassi polinsaturi (PUFA) nel muscolo e di grasso dorsale dei suini da ingrasso (Vaclavkova, 2011), la sua inclusione deve essere valutata con attenzione nelle diete dei suini destinati alla produzione dei prosciutti nazionali a denominazione di origine protetta (DOP) che caratterizzano il sistema produttivo del suino pesante italiano. Nel nostro studio la dieta TRT è stata formulata sostituendo la farina di soia con farina di girasole (2,5-5%) e farina di pisello (5-5,5%), rispettando le limitazioni della produzione DOP. Tuttavia, il numero di studi che hanno testato questa combinazione di fonti proteiche nelle diete dei suini è limitato. Invece, è più comune osservare studi in cui le due singole materie prime, piselli e farina di girasole, sono state studiate individualmente. Pertanto, alcune spiegazioni sull'effetto positivo di queste due materie prime sulle prestazioni di crescita dei suini possono essere estrapolate da questi studi.

Per quanto riguarda il pisello, diversi studi hanno osservato che in una dieta bilanciata per il profilo i AA, non vi è alcun effetto negativo sulle prestazioni di crescita dei suini in accrescimento e finissaggio con un livello di inclusione nella dieta del 30%. Inoltre, secondo lo studio di White et al. (2015), un tasso di inclusione del 30% con una completa sostituzione della farina di soia nella dieta è stato in grado di migliorare l'IPG degli animali. Secondo questi studi, i suini in ingrasso sono in grado di tollerare tassi di inclusione di farina di pisello fino al 40%. Inoltre, Argemí-Armengol (2022) sottolinea che l'alimentazione con dieta a base di pisello non ha influenzato l'ingestione alimentare, questa osservazione indica che questa materia prima non influenza la palatabilità del mangime. Nel caso della farina di girasole la letteratura è piuttosto controversa. Infatti, alcuni studi hanno osservato il peggioramento dell'IPG e del G:F nei suini alimentati con farina di girasole rispetto a quelli alimentati con farina di soia (Shelton et al., 2001; Povod et al., 2022). Al contrario, studi recenti non hanno riscontrato differenze nelle prestazioni di crescita (Cortamira et al., 2000; Mordenti et al., 2012; Trombetta e Mattii, 2016; Povod et al., 2021). Carellos et al. (2005) hanno esaminato cinque diete contenenti livelli diversi di inclusione di farina di girasole (0%, 4%, 8%, 12% e 16%). Le quantità crescenti di farina di girasole hanno causato la diminuzione lineare dell'ingestione, ma non vi sono

stati effetti significativi su altri parametri produttivi, concludendo che è possibile integrare la dieta di suini in ingrasso fino al 16%. I nostri risultati concordano con quelli di Carellos et al. (2005) poiché abbiamo utilizzato tra il 2,5% e il 5% di farina di girasole senza alcun deterioramento delle performance degli animali. La farina di girasole è il principale sottoprodotto dell'estrazione dell'olio e ha una qualità proteica simile a quella della farina di soia, tranne per il suo più basso livello di lisina, che è circa tre volte inferiore a quello della farina di soia (Lima et al., 1990). Pertanto, richiede integrazioni di lisina per soddisfare i requisiti nutrizionali degli animali.

Nel presente studio, l'iniziale riduzione del 31.4% di soia ha determinato una riduzione dell'IPG e della resa alimentare ed un aumento del consumo medio giornaliero nel periodo iniziale (d11-d94). Mentre, nel periodo successivo la riduzione di un 68% di soia nella dieta TRT ha determinato un incremento dell'IPG ed un miglioramento nella resa alimentare dei suini in ingrasso. Quest'ultimi risultati sono sovrapponibili a quelli riguardanti l'intero periodo (d11-d181) considerando una riduzione media della quota di soia del 56%. Questi risultati opposti tra la prima e la seconda fase vanno contestualizzati alla fase produttiva e alla differente efficienza digestiva degli animali durante le varie fasi di crescita. Infatti, lo stress correlato al trasporto e all'accasamento nel nuovo sito produttivo unito alla necessità di adattarsi ad una dieta la cui frazione proteica era costituita da farina di girasoli e pisello può aver limitato le potenzialità di crescita degli animali nel breve periodo (Kerr et al., 2005). Infatti, è ampiamente riportato che la farina di girasole ha un maggior contenuto di fibra insolubile e quindi una minore digeribilità rispetto alla farina di soia, mentre il pisello mostra una digeribilità paragonabile a quella della farina di soia, soprattutto per quanto riguarda la porzione proteica (Lannuzel et al., 2022; Nørgaard et al., 2012). D'altra parte, ci sono evidenze che l'uso della farina di girasole non sempre pregiudica le performance dell'animale nella fase di crescita-ingrasso (Cornescu et al., 2021). In ogni caso, ciò può dipendere dal livello di inclusione utilizzato nelle diverse prove.

Oltre alla digeribilità, modificazioni della dieta possono avere effetti sul comportamento degli animali, a causa della diversa cinetica di digestione che può influenzare il senso di sazietà. In ogni caso, in questo studio, nonostante il livello più elevato di fibra insolubile del gruppo TRT dovuto all'inclusione della farina di girasole, la dieta ha influenzato minimamente il comportamento degli animali. Un effetto è stato osservato solo nell'ultima fase di alimentazione, con un LSI della coda più basso e una prevalenza maggiore di comportamenti positivi. A nostra conoscenza, non sono stati riportati da altri autori dati riguardanti questi parametri. Oltre alla modifica delle fonti proteiche, in questo studio, nell'ultima fase di alimentazione (120-180 kg), le diete sono state differenziate per il livello di proteina grezza (PG) ma non per il livello di Lisina (CO: PG=12.5% - Lisina=0.7%; TRT: PG=11.3% - Lisina=0,68%) e non è stato osservato alcun effetto negativo sulle prestazioni. Questi dati confermano quelli di Gallo et al. (2014) riguardanti il suino pesante italiano, dove per la stessa fase di crescita hanno suggerito livelli di PG e Lisina pari a 10.8% e 4.8 g/kg, rispettivamente, evidenziando la possibilità di una maggiore restrizione dell'azoto alimentare nella dieta di finissaggio

anche nelle diete con forte restrizione nell'inclusione di farina di soia. Infine, l'assenza di differenze nella concentrazione di cortisolo e DHEA, considerati sensibili biomarcatori per il benessere degli animali (Pollock et al., 2021), permette di escludere un disagio a lungo termine legato alle modifiche della dieta.

Anche se il presente studio ha dimostrato un effetto benefico sulle prestazioni di crescita dei suini in ingrasso alimentati con una dieta contenente fonti proteiche non convenzionali, questo miglioramento non può essere attribuito direttamente a un aumento della sintesi proteica o alla deposizione di proteine muscolari, come indicato dall'assenza di un effetto significativo sull'ammoniaca fecale. Infatti, i livelli di ammoniaca fecale possono fornire informazioni sull'utilizzazione e l'efficienza delle proteine, ma non sono un indicatore diretto dell'efficienza della sintesi proteica. L'ammoniaca viene prodotta nell'intestino crasso a seguito della fermentazione batterica di proteine non digerite e di aminoacidi. Livelli più elevati di ammoniaca nelle feci possono indicare una digestione o un'utilizzazione non ottimale delle proteine dietetiche da parte degli animali. Pertanto, nel nostro caso, poiché non vi erano differenze significative nella concentrazione di ammoniaca fecale correlabili alla dieta, possiamo concludere che l'uso di fonti proteiche alternative non ha influenzato negativamente la digeribilità o l'utilizzazione delle proteine somministrate. Tuttavia, l'ammoniaca fecale da sola potrebbe non fornire una valutazione completa dell'efficienza della sintesi proteica nei suini. Altre misure dirette o indirette, come l'ammoniaca urinaria e l'azoto ureico nel sangue (Kohn et al., 2005), dovrebbero essere prese in considerazione in studi futuri per valutare accuratamente l'efficienza della sintesi proteica.

D'altra parte, in questo studio è stata misurata la concentrazione di alcuni gas a livello del box per valutare le possibili ripercussioni della dieta sull'ambiente dell'allevamento. Durante la fase iniziale della sperimentazione, i box che ospitavano i suini del gruppo TRT presentavano concentrazioni di NH_3 più elevate rispetto a quelle del gruppo CO. La ridotta efficienza alimentare del gruppo TRT durante la fase iniziale potrebbe essere correlata a questa osservazione (Monteiro et al., 2021). Tuttavia, l'aspetto negativo diminuisce con il passare del tempo e non si osservano ulteriori differenze tra i gruppi TRT e CO nelle fasi successive, quando il gruppo TRT risulta più efficiente del gruppo CO. La mancanza di differenze in quest'ultima fase potrebbe essere attribuita alla generale riduzione di NH_3 rilevata nelle ultime fasi. Infatti, la concentrazione di NH_3 e di CO_2 nell'ambiente mostra una riduzione lineare nel tempo per entrambi i gruppi. Questo miglioramento della qualità dell'aria per entrambi i gruppi è probabilmente dovuto alla riduzione del livello di CP nella dieta dalla prima all'ultima fase di alimentazione, nonché al fatto che la ventilazione della struttura era rigorosamente naturale e, con l'avvento dei mesi più caldi, c'era una maggiore circolazione dell'aria.

Oltre all'effetto sulle prestazioni, i cambiamenti nella dieta sono uno dei primi fattori che influenzano il microbiota intestinale dei suini (Trevisi et al., 2021). In ogni caso, abbiamo evidenziato che, nel complesso, il raggruppamento dei campioni in base alla composizione batterica può indicare modelli distinti o gruppi di campioni associati ai diversi gruppi sperimentali. In questo studio, i campioni si

sono raggruppati principalmente in base al momento del campionamento, suggerendo che il tempo è un fattore importante nella modulazione del microbiota intestinale. Tuttavia, l'effetto del tempo nella modulazione del microbiota intestinale non è l'obiettivo di questa ricerca. Tenendo conto dell'effetto della dieta, la modulazione delle materie prime e della densità di PG nella dieta può esercitare un effetto selettivo sul microbiota intestinale. In questo studio, la composizione del microbiota intestinale è stata leggermente influenzata dalla dieta, poiché non sono state osservate differenze negli indici di diversità alfa e beta. Tuttavia, la dieta ha influenzato l'abbondanza di alcuni taxa specifici che possono svolgere un ruolo importante per la salute dei suini. L'analisi LDA ha rivelato che al d11 il gruppo CO era caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Prevotella*, mentre il gruppo TRT era caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Treponema* e *Butyrivibrio*. Quest'ultimo risultato suggerirebbe un aumento della produzione del butirato nel gruppo TRT (Trachsel et al., 2018), al contrario, un aumento del butirato è stato osservato nel gruppo CO. Tuttavia, i risultati in termini di AGV possono essere attribuiti anche ad altri generi. Infatti, in base alla letteratura, sia *Prevotella* sia *Treponema* sono due dei principali generi che caratterizzano gli enterotipi microbici dei suini e che possono influenzare la produzione di AGV (Ke et al., 2019; Amat et al., 2020; Chen et al., 2021). Inoltre, i risultati dello studio concordano con la letteratura in cui è riportato che *Prevotella* è nota per coesistere con l'enterotipo *Treponema* (Ramayo-Caldas et al., 2016; Yang et al., 2018). Inoltre, *Prevotella* è associata positivamente all'abbondanza di acido propionico, che è risultato significativamente più elevato nel gruppo CO (Sebastià et al., 2023). Inoltre, i nostri risultati confermano precedenti osservazioni che collegano i membri del genere *Prevotella* a risultati favorevoli in termini di miglioramento delle prestazioni di crescita e della risposta immunitaria (Amat et al., 2020). D'altra parte, la predominanza di *Treponema* nel gruppo TRT potrebbe essere associata alla diversa fonte di fibre presente nelle diete, come suggerito da studi condotti nell'uomo (De Filippo et al. 2010) e sui suini (He et al. 2023). Infatti, al d94, la fine della seconda fase dietetica, dove l'inclusione di farine di piselli e girasole è maggiore rispetto agli altri periodi di alimentazione, emergono differenze anche all'interno dei gruppi. Nel gruppo CO, il genere *Romboutsia* diventa predominante, mentre nel gruppo TRT *Methanobrevibacter*, *Mitsuokella* e *Family_XIII_AD3011* sono i più abbondanti. Tra i generi citati, anche se l'abbondanza di *Methanobrevibacter* non è rara nei suini, sembra che le fibre alimentari, come quelle provenienti dal pisello, abbiano il potenziale di aumentare questo genere nell'intestino dei suini (Luo et al., 2017; Mi et al. 2019). Inoltre, i metanogeni svolgono un ruolo importante nel mantenimento dell'equilibrio del microbioma intestinale (Mi et al., 2019) e contribuiscono in modo significativo alla produzione di energia (Camara et al., 2021). Infatti, la fibra è un nutriente complesso ed eterogeneo, che a seconda delle sue caratteristiche può influenzare la composizione del microbiota a causa della sua diversa degradabilità (He et al., 2023). Infine, al d181, i campioni fecali del gruppo TRT hanno mostrato una concentrazione significativamente più elevata di acido propionico e butirrico. In particolare, nel nostro studio, le femmine del gruppo CO presentavano valori una minore concentrazione di acido butirrico rispetto alle femmine del gruppo TRT e ai maschi di entrambi i

gruppi. Altri studi condotti sull'uomo hanno mostrato concentrazioni di acido butirrico più elevate nei maschi rispetto alle femmine (Cui et al., 2012). Queste differenze di sesso sono state associate a un effetto dovuto all'assunzione differenziata di macronutrienti, in particolare carboidrati (Teixeira et al., 2013). Sulla base di questo risultato, si potrebbe ipotizzare che le femmine del gruppo TRT utilizzino i nutrienti in modo più efficiente rispetto alle femmine che seguono la dieta CO. L'acido butirrico ha funzioni fisiologiche di promozione della salute intestinale e sia l'acido propionico che l'acido butirrico fungono da fonte di energia per l'epitelio intestinale, svolgendo così un ruolo importantissimo nella salute dell'intestino (Liang et al. 2021). Allo stesso tempo, non si può concludere che la dieta TRT abbia migliorato la salute intestinale degli animali. In primo luogo perché, ancora una volta a d181, il gruppo CO presentava un'elevata abbondanza di *Bifidobacterium*, che è noto per essere un antagonista dei microrganismi patogeni e quindi aiuta a preservare la salute intestinale (Homma, 1988), mentre il gruppo TRT era caratterizzato da un'elevata abbondanza di *Clostridium sensu stricto*. Zhu et al. (2018) hanno riscontrato che il *Clostridium sensu stricto* si correla positivamente con la diarrea nei suinetti. Pertanto, la nostra ricerca ha inaspettatamente rilevato che l'abbondanza di generi batterici comunemente associati a condizioni di disbiosi caratterizza gli animali con le migliori prestazioni.

In conclusione, lo studio indica che la sostituzione di una percentuale media del 56% di farina di soia con farina di girasole e pisello, pur riducendo la PG, non influisce negativamente sulle performance e sulla salute dei suini all'ingrasso. Questo risultato è particolarmente significativo se si considera l'importanza della produzione suinicola italiana, orientata alla produzione di prosciutto DOP, e la necessità di ridurre l'impatto ambientale associato alle diete dei suini. L'industria suinicola può ridurre la propria impronta ambientale adottando strategie alimentari che incorporino proteine di provenienza locale. Per accompagnare questo tipo di ricerche, si potrebbe condurre un'analisi *Life Cycle Assessment*. Tuttavia, è fondamentale valutare attentamente l'impatto delle nuove fonti proteiche sulle prestazioni e sulla salute dei suini. Infatti è importante testare diverse combinazioni e proporzioni di alimenti per determinare la formulazione dietetica ottimale che massimizzi le prestazioni e la salute dei suini nella fase d'ingrasso. Ciò comporta la regolazione dei livelli di PG per soddisfare le esigenze specifiche degli animali nelle diverse fasi di crescita e ingrasso.

Bibliografia

- Amat, S., Lantz, H., Munyaka, P.M., Willing, B.P., 2020. Prevalence in Pigs: The Positive and Negative Associations with Production and Health. *Microorganisms* 8, 1584. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101584>
- Argemí-Armengol, I., Villalba, D., Vall, L., Coma, R., Roma, J., Álvarez-Rodríguez, J., 2022. Locally Grown Crops and Immunocastration in Fattening Heavy Pigs: Effects on Performance and Welfare. *Animals (Basel)* 12, 1629. <https://doi.org/10.3390/ani12131629>
- Bacci, M.L., Nannoni, E., Govoni, N., Scorrano, F., Zannoni, A., Forni, M., Martelli, G., Sardi, L., 2014. Hair cortisol determination in sows in two consecutive reproductive cycles. *Reproductive Biology* 14, 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.06.001>
- Camara, A., Konate, S., Tidjani Alou, M., Kodio, A., Togo, A.H., Cortaredona, S., Henrissat, B., Thera, M.A., Doumbo, O.K., Raoult, D., Million, M., 2021. Clinical evidence of the role of *Methanobrevibacter smithii* in severe acute malnutrition. *Sci Rep* 11, 5426. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84641-8>
- Carellos, D. de C., Lima, J.A. de F., Fialho, E.T., Freitas, R.T.F. de, Silva, H.O., Branco, P.A.C., Souza, Z.A. de, Vieira Neto, J., 2005. Evaluation of sunflower meal on growth and carcass traits of finishing pigs. *Ciênc. agrotec.* 29, 208–215. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000100026>
- Chen, C., Fang, S., Wei, H., He, M., Fu, H., Xiong, X., Zhou, Y., Wu, J., Gao, J., Yang, H., Huang, L., 2021. Prevalence of copri increases fat accumulation in pigs fed with formula diets. *Microbiome* 9, 175. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01110-0>
- Cornescu, G.M., Panaite, T., Ropota, M., 2021. Influences of different sources and levels of crude fiber on performances, fatty acids profile and carcass traits in growing-fattening pigs' diet. *Archiva Zootechnica* 24, 5–16. <https://doi.org/10.2478/azibna-2021-0001>
- Cortamira, O., Gallego, A., Kim, S.W., 2000. Evaluation of Twice Decorticated Sunflower Meal as a Protein Source Compared with Soybean Meal in Pig Diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 13, 1296–1303.
- Cui, M., Trimigno, A., Aru, V., Rasmussen, M.A., Khakimov, B., Engelsen, S.B., 2021. Influence of Age, Sex, and Diet on the Human Fecal Metabolome Investigated by 1H NMR Spectroscopy. *J. Proteome Res.* 20, 3642–3653. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00220>
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J.B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., Lionetti, P., 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>

- Degola, L., Jonkus, D., 2018. The influence of dietary inclusion of peas, faba bean and lupin as a replacement for soybean meal on pig performance and carcass traits 236.6Kb. <https://doi.org/10.15159/AR.18.072>
- Elmi, A., Galligioni, V., Govoni, N., Bertocchi, M., Anibaldi, C., Bacci, M.L., Sánchez-Morgado, J.M., Ventrella, D., 2020. Quantification of Hair Corticosterone, DHEA and Testosterone as a Potential Tool for Welfare Assessment in Male Laboratory Mice. *Animals (Basel)* 10, 2408. <https://doi.org/10.3390/ani10122408>
- Gallo, L., Dalla Montà, G., Carraro, L., Cecchinato, A., Carnier, P., Schiavon, S., 2014. Growth performance of heavy pigs fed restrictively diets with decreasing crude protein and indispensable amino acids content. *Livestock Science* 161, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.12.027>
- Grunert, K.G., Sonntag, W.I., Glanz-Chanos, V., Forum, S., 2018. Consumer interest in environmental impact, safety, health and animal welfare aspects of modern pig production: Results of a cross-national choice experiment. *Meat Science* 137, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.022>
- Hanczakowska, E., Świątkiewicz, M., 2014. Legume Seeds and Rapeseed Press Cake as Replacers of Soybean Meal in Feed for Fattening Pigs. *Annals of Animal Science* 14, 921–934. <https://doi.org/10.2478/aoas-2014-0068>
- He, H., Gou, Y., Zeng, B., Wang, R., Yang, J., Wang, K., Jing, Y., Yang, Yuan, Liang, Y., Yang, Yuekui, Lv, X., He, Z., Tang, Q., Gu, Y., 2023. Comparative evaluation of the fecal microbiota of adult hybrid pigs and Tibetan pigs, and dynamic changes in the fecal microbiota of hybrid pigs. *Front Immunol* 14, 1329590. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1329590>
- He, Z., Zhan, X., Cao, S., Wen, X., Hou, L., Liu, S., Zheng, H., Gao, K., Yang, X., Jiang, Z., Wang, L., 2023. Effect of Miscellaneous Meal Replacements for Soybean Meal on Growth Performance, Serum Biochemical Parameters, and Gut Microbiota of 50–75 kg Growing Pigs. *Animals* 13, 3499. <https://doi.org/10.3390/ani13223499>
- Homma, N., 1988. Bifidobacteria as a Resistance Factor in Human Beings. *Bifidobacteria and Microflora* 7, 35–43. https://doi.org/10.12938/bifidus1982.7.1_35
- Ke, S., Fang, S., He, M., Huang, X., Yang, H., Yang, B., Chen, C., Huang, L., 2019. Age-based dynamic changes of phylogenetic composition and interaction networks of health pig gut microbiome feeding in a uniformed condition. *BMC Veterinary Research* 15, 172. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1918-5>
- Kerr, C.A., Giles, L.R., Jones, M.R., Reverter, A., 2005. Effects of grouping unfamiliar cohorts, high ambient temperature and stocking density on live performance of growing pigs1. *Journal of Animal Science* 83, 908–915. <https://doi.org/10.2527/2005.834908x>
- Kohn RA, Dinneen MM and Russek-Cohen E 2005. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats1. *Journal of Animal Science* 83, 879–889

- Lannuzel, C., Smith, A., Mary, A.L., Della Pia, E.A., Kabel, M.A., de Vries, S., 2022. Improving fiber utilization from rapeseed and sunflower seed meals to substitute soybean meal in pig and chicken diets: A review. *Animal Feed Science and Technology* 285, 115213. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115213>
- Leeuw, J.A. de, Bolhuis, J.E., Bosch, G., Gerrits, W.J.J., 2008. Effects of dietary fibre on behaviour and satiety in pigs: Symposium on 'Behavioural nutrition and energy balance in the young.' *Proceedings of the Nutrition Society* 67, 334–342. <https://doi.org/10.1017/S002966510800863X>
- Liang, J., Kou, S., Chen, C., Raza, S.H.A., Wang, S., Ma, X., Zhang, W.-J., Nie, C., 2021. Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance, metabonomics and intestinal microbial differences of weaned piglets. *BMC Microbiology* 21, 85. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02143-z>
- Lima, G. J. M. M. et al. Tamanho da partícula afeta a digestibilidade do farelo de girassol em suínos. Brasília: EMBRAPA-CNPQA, 1990. 2 p. (Circular técnica, 153).
- Lombardi, P., Musco, N., Calabrò, S., Tudisco, R., Mastellone, V., Vastolo, A., Infascelli, F., Cutrignelli, M.I., 2020. Different carbohydrate sources affect swine performance and post-prandial glycaemic response. *Italian Journal of Animal Science* 19, 421–430. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1749899>
- Luo, Y., Chen, H., Yu, B., He, J., Zheng, P., Mao, X., Tian, G., Yu, J., Huang, Z., Luo, J., Chen, D., 2017. Dietary pea fiber increases diversity of colonic methanogens of pigs with a shift from *Methanobrevibacter* to *Methanomassiliicoccus*-like genus and change in numbers of three hydrogenotrophs. *BMC Microbiol* 17, 17. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0919-9>
- McAuliffe, G.A., Chapman, D.V., Sage, C.L., 2016. A thematic review of life cycle assessment (LCA) applied to pig production. *Environmental Impact Assessment Review* 56, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2015.08.008>
- Mi, J., Peng, H., Wu, Y., Wang, Y., Liao, X., 2019. Diversity and community of methanogens in the large intestine of finishing pigs. *BMC Microbiol* 19, 83. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1459-x>
- Monteiro, A.N.T.R., Brossard, L., Gilbert, H., Dourmad, J.-Y., 2021. Environmental Impacts and Their Association With Performance and Excretion Traits in Growing Pigs. *Frontiers in Veterinary Science* 8.
- Mordenti, A.L., Martelli, G., Brogna, N., Nannoni, E., Vignola, G., Zaghini, G., Sardi, L., 2012. Effects of a soybean-free diet supplied to Italian heavy pigs on fattening performance, and meat and dry-cured ham quality. *Italian Journal of Animal Science* 11, e80. <https://doi.org/10.4081/ijas.2012.e80>
- Mosnier, E., Werf, H.M.G. van der, Boissy, J., Dourmad, J.-Y., 2011. Evaluation of the environmental implications of the incorporation of feed-use amino acids in the

- manufacturing of pig and broiler feeds using Life Cycle Assessment. *animal* 5, 1972–1983. <https://doi.org/10.1017/S1751731111001078>
- Munsterhjelm, C., Brunberg, E., Heinonen, M., Keeling, L., Valros, A., 2013. Stress measures in tail biters and bitten pigs in a matched case-control study. *Animal Welfare* 22, 331–338. <https://doi.org/10.7120/09627286.22.3.331>
 - National Research Council. *Nutrient Requirements of Swine*; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2012;
 - Nørgaard, J.V., Fernández, J.A., Jørgensen, H., 2012. Ileal digestibility of sunflower meal, pea, rapeseed cake, and lupine in pigs. *Journal of Animal Science* 90, 203–205. <https://doi.org/10.2527/jas.53919>
 - Ogino, A., Osada, T., Takada, R., Takagi, T., Tsujimoto, S., Tonoue, T., Matsui, D., Katsumata, M., Yamashita, T., Tanaka, Y., 2013. Life cycle assessment of Japanese pig farming using low-protein diet supplemented with amino acids. *Soil Science and Plant Nutrition* 59, 107–118. <https://doi.org/10.1080/00380768.2012.730476>
 - Palumbo, F., Luise, D., Viridis, S., Correa, F., Bassi, P., Trevisi, P., 2023. Relationship between growing pig's housing conditions, behaviours, lesions and health issues under Italian farming system. *Italian Journal of Animal Science* 22, 1040–1049. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2268116>
 - Pollock, D.S., Janz, D.M., Moya, D., Seddon, Y.M., 2021. Effects of Wash Protocol and Contamination Level on Concentrations of Cortisol and Dehydroepiandrosterone (DHEA) in Swine Hair. *Animals* 11, 3104. <https://doi.org/10.3390/ani11113104>
 - Povod, M., Mykhalko, O., Povochnikov, M., Guttyj, B., Koberniuk, V., Shuplyk, V., Ievstafieva, Y., Buchkovska, V., 2022. Efficiency of using high-protein sunflower meal instead of soybean meal in feeding of growing piglets 22.
 - Povod, M.G., Mikhalko, O.G., Shpetny, M.B., Opara, V.O., 2021, Productive qualities of fattening young pigs at different levels of protein in the diet. *Bulletin of the Sumy National Agrarian University. Series "Livestock"*, Vol. 3(46): 79–84. <https://doi.org/10.32845/bsnau.lvst.2021.3.10>.
 - Ramayo-Caldas Y., Mach N., Lepage P., Levenez F., Denis C., Lemonnier G. Phylogenetic network analysis applied to pig gut microbiota identifies an ecosystem structure linked with growth traits. *ISME J.* 2016;10:2973–2977.
 - Reckmann, K., Blank, R., Traulsen, I., Krieter, J., 2016. Comparative life cycle assessment (LCA) of pork using different protein sources in pig feed. *Archives Animal Breeding* 59, 27–36. <https://doi.org/10.5194/aab-59-27-2016>
 - Regolamento di esecuzione (UE) 2023/461 della Commissione del 27 febbraio 2023 recante approvazione di una modifica non minore del disciplinare di un nome iscritto nel registro delle denominazioni di origine protette e delle indicazioni geografiche protette [«Prosciutto di Parma» (DOP)], 2023., OJ L.

- Sandri, M., Dal Monego, S., Conte, G., Sgorlon, S., Stefanon, B., 2017. Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Veterinary Research* 13, 65. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0981-z>
- Schrøder-Petersen, D.L., Simonsen, H.B., 2001. Tail Biting in Pigs. *The Veterinary Journal* 162, 196–210. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2001.0605>
- Sebastià, C., Folch, J.M., Ballester, M., Estellé, J., Passols, M., Muñoz, M., García-Casco, J.M., Fernández, A.I., Castelló, A., Sánchez, A., Crespo-Piazuelo, D., 2023. Interrelation between gut microbiota, SCFA, and fatty acid composition in pigs. *mSystems* 9, e01049-23. <https://doi.org/10.1128/msystems.01049-23>
- Shelton, J.L., Hemann, M.D., Strode, R.M., Brashear, G.L., Ellis, M., McKeith, F.K., Bidner, T.D., Southern, L.L., 2001. Effect of different protein sources on growth and carcass traits in growing-finishing pigs². *Journal of Animal Science* 79, 2428–2435. <https://doi.org/10.2527/2001.7992428x>
- Skoufos, I., 2014. Alternative protein sources to soybean meal in pig diets. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12, 655–666.
- Smith, L.A., Houdijk, J.G.M., Homer, D., Kyriazakis, I., 2013. Effects of dietary inclusion of pea and faba bean as a replacement for soybean meal on grower and finisher pig performance and carcass quality¹. *Journal of Animal Science* 91, 3733–3741. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6157>
- Strid Eriksson, I., Elmquist, H., Stern, S., Nybrant, T., 2005. Environmental Systems Analysis of Pig Production - The Impact of Feed Choice (12 pp). *Int J Life Cycle Assessment* 10, 143–154. <https://doi.org/10.1065/lca2004.06.160>
- Teixeira, T.F.S., Grześkowiak, Ł., Franceschini, S.C.C., Bressan, J., Ferreira, C.L.L.F., Peluzio, M.C.G., 2013. Higher level of faecal SCFA in women correlates with metabolic syndrome risk factors. *British Journal of Nutrition* 109, 914–919. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002723>
- Thrane, M., Paulsen, P.V., Orcutt, M.W., Krieger, T.M., 2017. Soy Protein, in: *Sustainable Protein Sources*. Elsevier, pp. 23–45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00002-0>
- Trachsel, J., Humphrey, S., Allen, H.K., 2018. *Butyricoccus porcorum* sp. nov., a butyrate-producing bacterium from swine intestinal tract. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68, 1737–1742. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002738>
- Trevisi, P., Luise, D., Correa, F., Bosi, P., 2021. Timely Control of Gastrointestinal Eubiosis: A Strategic Pillar of Pig Health. *Microorganisms* 9, 313. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020313>
- Trombetta, M.F., Mattii, S., 2005. Sunflower expeller vs. soya meal in heavy pig production: performance and digestibility. *Italian Journal of Animal Science* 4, 461–463. <https://doi.org/10.4081/ijas.2005.2s.461>

- Tuśnio, A., Taciak, M., Barszcz, M., Świąch, E., Bachanek, I., Skomiał, J., 2017. Effect of Replacing Soybean Meal by Raw or Extruded Pea Seeds on Growth Performance and Selected Physiological Parameters of the Ileum and Distal Colon of Pigs. PLOS ONE 12, e0169467. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169467>
- Uwizeye, A., Gerber, P.J., Opio, C.I., Tempio, G., Mottet, A., Makkar, H.P.S., Falcucci, A., Steinfeld, H., de Boer, I.J.M., 2019. Nitrogen flows in global pork supply chains and potential improvement from feeding swill to pigs. Resources, Conservation and Recycling 146, 168–179. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.03.032>
- Vaclavkova, E., Danek, P., Rozkot, M., 2011. Effect of sunflower in pig diet on fatty acid content in muscle and fat tissue of fattening pigs. Research in Pig Breeding (Czech Republic) 5.
- Vitali, M., Nannoni, E., Sardi, L., Martelli, G., 2021. Knowledge and Perspectives on the Welfare of Italian Heavy Pigs on Farms. Animals 11, 1690. <https://doi.org/10.3390/ani11061690>
- Vitali, M., Nannoni, E., Sardi, L., Martelli, G., 2021. Knowledge and Perspectives on the Welfare of Italian Heavy Pigs on Farms. Animals 11, 1690. <https://doi.org/10.3390/ani11061690>
- Wang, J. P., Hong, S. M., Yan, L., Cho, J. H., Lee, H. S., Kim, I. H., 2011. The evaluation of soybean meals from 3 major soybean-producing countries on productive performance and feeding value of pig diets. Journal of Animal Science, 89(9), 2768-2773.
- White, G.A., Smith, L.A., Houdijk, J.G.M., Homer, D., Kyriazakis, I., Wiseman, J., 2015. Replacement of soya bean meal with peas and faba beans in growing/finishing pig diets: Effect on performance, carcass composition and nutrient excretion. Animal Feed Science and Technology 209, 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.005>
- Wilke, V., Gickel, J., Visscher, C., 2023. Monitoring of Performance-Based Environmental Impacts of Substituting Soybean Meal with Rapeseed Meal in the Rye-Based Diet of Weaned Pigs. Sustainability 15, 2210. <https://doi.org/10.3390/su15032210>;
- Yang H., Yang M., Fang S., Huang X., He M., Ke S. Evaluating the profound effect of gut microbiome on host appetite in pigs. BMC Microbiol. 2018;18:215
- Zhu, J., Gao, M., Song, X., Zhao, L., Li, Y., Hao, Z., 2018. Changes in bacterial diversity and composition in the faeces and colon of weaned piglets after feeding fermented soybean meal. Journal of Medical Microbiology 67, 1181–1190. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000766>
- Amat, S., Lantz, H., Munyaka, P.M., Willing, B.P., 2020. Prevotella in Pigs: The Positive and Negative Associations with Production and Health. Microorganisms 8, 1584. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101584>

Tabelle e figure

Tabella 1. Ingredienti prestabiliti e realmente impiegati della dieta L31 per i due gruppi sperimentali.

Nome ingrediente	CO			TRT			
	Data produzione dei lotti	Prestabilito	04/02/2023	14/02/2023	Prestabilito	04/02/2023	14/02/2023
ORZO 10-5		27.75	33.31	34.9	27.5	27.51	27.5
GRANOM FRUMENTO 1 %			18.56	10		20	20
MANOGM MAIS 8% NOGM		21.1	16	16.01	34.86	18.72	18.22
SOYA55 SOYA pg.46% gen		13.1			8.38		
S480GM SOIA 48 OGM FREE			12.13	12.17		8.33	8.33
FAMOGM MAIS PREMACINATO		8	8	8	1.33	8	8
PISEIZ PISELLO 19%gen Neri							5.5
PISELZ PISELLO PROT					5.5	5.5	
GIRPRO GIRASOLE FE 36-19					4.67	2.67	3.17
CRUSCT CRUSCA TEN 15ge		5	1.67	1.67			
104650 TRITICALE 11% mo		10		7.5			
SORGOB SORGOBIANCO 10%		6			7.5		
GERMEN GERME MAIS NAZ. tamp					1		
VALINA 96.5%					0.01	0.02	0.02
GRASSO MISTO SIB		2.83	3	3	2.83	2.83	2.83
POLPEB BARB POL 9 P116 F mod		2.5	3.59	3	2.5	2.5	2.5
CALCIO CARBONAT		0.93	0.94	0.93	0.93	0.93	0.93
ACIDO FORMICO LIQ		0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
ADM/50 LIS LIQUIDA 50%		0.6	0.62	0.61	0.67	0.67	0.67
SODIOC SALGEMMA-NACL		0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
1540GE INT SUINI		0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
MOPHOS FOSF.MONOCALCICO		0.25	0.25	0.25	0.33	0.33	0.33
TREONINA		0.13	0.14	0.14	0.14	0.16	0.16
ALIMET MHA		0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13
COLINA LIQUIDA 75		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
4HIPHO HIPHOSO-50		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
4HIPHO HIPHOS 50-100		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
TRIPTOFANO-L		0.02	0.02	0.02	0.04	0.04	0.03

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

Tabella 2. Profili nutrizionali teorici e reali della dieta L31 per i due gruppi sperimentali.

COMPONENTE	CO		TRT	
	Composizione chimica teorica media	Composizione chimica reale	Composizione chimica teorica media	Composizione chimica reale
S. SECCA	86.73	89.4	86.72	88.5
PROTIDI	14.10	13.9	13.98	13.69
LIPIDI	5.24	5.28	5.07	5.07
FIBRA	3.75	3.63	3.94	3.94
CENERI	4.41	4.25	4.39	4.28
AMIDO	43.84	44.00	45.00	44.81

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

Tabella 3. Composizione aminoacidica attesa e reale della dieta L31 per i due gruppi sperimentali, a confronto con i fabbisogni aminoacidici riportati da NRC (2012).

Aminoacido	CONTROLLO			TRATTATO		
	Atteso	Reale	Fabbisogno aminoacidico % (25-50 Kg)*	Atteso	Reale	Fabbisogno aminoacidico % (25-50 Kg)*
LYS	0.92	0.92	1.12	0.93	0.91	1.12
	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio fabbisogno aminoacidico 25-50 Kg (%)	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio Fabbisogno aminoacidico 25-50 Kg (%)
MET	0.34	0.61	0.29	0.34	0.55	0.29
TRP	0.21	0.30	0.17	0.21	0.31	0.17
THR	0.67	0.55	0.64	0.67	0.53	0.64
ARG	0.87	0.36	0.45	0.90	0.40	0.45
CYSTEIC ACID		1.12			1.31	
ASPARTIC ACID		1.22			1.53	
GLUTAMIC ACID		2.84			3.08	
SERINA		0.48			0.57	
GLICINA		0.68			0.60	
ISTIDINA		0.45	0.35		0.49	0.35
ALANINA		0.76			0.90	
PROLINA		0.57			0.71	
TIROSINA		0.23			0.16	
VALINA		0.58	0.67		0.56	0.67
CISTINA		0.34			0.24	
ISOLEUCINA		0.49	0.53		0.48	0.53
LEUCINA		0.74	1.01		0.60	1.01
FENILALANINA		0.66	0.60		0.67	0.60

* Fabbisogno NRC 2012 espresso in % sulla dieta

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

Tabella 4. Ingredienti prestabiliti e realmente impiegati della dieta M91 per i due gruppi sperimentali.

Nome ingrediente	CO		TRT	
	Prestabilit o	24/03/2023	Prestabilit o	24/03/2023
ORZO 10-5	10	18	10	10
GRANOM FRUMENTO 11 %			3.17	19.17
YELLOW MAIS 8%	27.39	35.11	38.08	15
SOYA55 SOYA pg.46% gen(BUNGE	10.38		3.71	
S480GM SOIA 48 OGM FREE		10.83		3.5
FAMAI5 MAIS PREMACINATO gen	17.5	8		7.67
PISELZ PISELLO 19% gen(Neri)		1.67		5
GIRPRO GIRASOLE FE 36-19 gen	3		6.17	5
FACCIA FARINACCIO 45% en		5		5.03
CRUSCT CRUSCA TEN 15gen	3.33	1.33		
104650 TRITICALE 11% mod	1	10		
PISELZ PISELLO PROT			5.5	
SORGOB SORGO BIANCO 10%	20		20	20.5
GERMEN GERME MAIS NAZ. tampi			5	2.5
SODIOB SODIO BICARBONATO		0.55		0.5
ROVBIO ROVABIO AP/10		0.05		0.05
GRASSO GRASSO MISTO SIB	1.5	1.83	2.5	2
POLPEB BARB POL 9 P/16 F mod	3	5.5	3	2.5
CALCIO CALCIO CARBONAT \$	1.2	0.87	1.1	0.93
ADM/50 LIS LIQUIDA 50%	0.51	0.44	0.63	0.66
SODIOC SALGEMMA-NACL	0.52		0.43	
1540GE INT SUINI	0.25	0.25	0.25	0.25
MOPHOS FOSF.MONOCALCICO	0.18	0.3	0.17	0.08
4TREON TREONINA-sacconi	0.09	0.1	0.12	0.13
1 ALIME ALIMET MHA(no	0.06	0.07	0.07	0.07
4HIPHO HIPHOSO-50	0.05	0.05	0.05	0.06
4HIPHO HIPHOS 50-100	0.05	0.05	0.05	0.05

Tabella 5. Profili nutrizionali teorici e reali della dieta M91 per i due gruppi sperimentali.

COMPONENTE	CO		TRT	
	Composizione teorica	Composizione reale	Composizione teorica	Composizione reale
S. SECCA	87.21	88.5	87.38	88.55
PROTIDI	13.37	13.12	13.27	13.2
LIPIDI	4.36	4.77	4.29	4.51
FIBRA	3.84	3.68	4.05	4.19
CENERI	4.21	4.2	3.83	3.84
AMIDO	45.73	46.14	48.79	48.13

Tabella 6. Composizione amminoacidica attesa e reale della dieta M91 per i due gruppi sperimentali, a confronto con i fabbisogni amminoacidici riportati da NRC (2012).

Amminoacido	CO			TRT		
	Atteso	Reale	Fabbisogno amminoacidico % (75-100kg)*	Atteso	Reale	Fabbisogno amminoacidico % (75-100kg)*
LYS	0.8	0.85	0.84	0.81	0.85	0.84
	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio Fabbisogno amminoacidico % (75-100kg)	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio Fabbisogno amminoacidico % (75-100kg)
MET	0.32	0.48	0.3	0.34	0.58	0.3
TRP	0.19	0.28	0.18	0.17	0.26	0.18
THR	0.7	0.66	0.67	0.7	0.54	0.67
ARG	0.63	0.38	0.45	0.95	0.35	0.45
CYSTEIC ACID		1.45			1.35	
ASPARTIC ACID		1.36			1.55	
GLUTAMIC ACID		2.82			3.06	
SERINA		0.62			0.49	
GLICINA		0.72			0.72	
ISTIDINA		0.48	0.36		0.26	0.36
ALANINA		0.85			0.73	
PROLINA		0.65			0.84	
TIROSINA		0.18			0.16	
VALINA		0.6	0.68		0.54	0.68
CISTINA		0.38			0.19	
ISOLEUCINA		0.49	0.54		0.52	0.54
LEUCINA		0.68	1.01		0.75	1.01
FENILALANINA		0.66	0.61		0.58	0.61

* Fabbisogno NRC 2012 espresso in % sulla dieta.

Tabella 7. Ingredienti prestabiliti e realmente impiegati della dieta M121 per i due gruppi sperimentali.

Nome ingrediente	CO			TRT	
	Prestabilito	23/05/2023	05/06/2023	Prestabilito	15/05/2023
ORZOUZ ORZO 10-5	30	25	25	25	22.5
GRANOM FRUMENTO 11 %				3.27	13.63
YELLOW MAIS 8%	30.51	30.55	30.15	50.66	34.93
SOYA55 SOYA pg.46% gen(BUNGE	6.94			2.52	
S480GM SOIA 48 OGM FREE		8	8		2.5
FAMAIS MAIS PREMACINATO gen	22.5	20	18.5		12.5
PISEIZ PISELLO 19%gpn(Neri)		2.83	6		5
PISELZ PISELLO PROT				5.5	
GIRPRO GIRASOLE FE 36-19				5.5	2.5
FACCIA FARINACCIO 45% gen		4.93	4.76		
CRUSCT CRUSCA TEN 15gen	1.33	2.67	1.67		
SODIOB SODIO BICARBONATO		0.58	0.58		0.47
ROVBIO ROVABIO AP/10		0.05	0.05		0.05
GRASSO MISTO SIB	2.5	1.5	1.5	2.5	1.67
POLPEB BARB POL 9 P116 F mod	4	2.5	2.5	3	2.5
CALCIO CALCIO CARBONAT \$	0.83	0.77	0.77	0.77	0.77
ADM/50 LIS LIQUIDA 50%	0.33	0.21	0.14	0.35	0.4
SODIOC SALGEMMA-NACL	0.43			0.43	
1540GE INT SUINI	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
MOPHOS FOSF.MONOCALCICO	0.27	0.1	0.1	0.17	0.22
4TREON TREONINA-sacconi	0.05	0.01		0.04	0.06
4HIPHO HIPHOSO-50	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
4HIPHO HIPHOS 50-100	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

Tabella 8. Profili nutrizionali teorici e reali della dieta M121 per i due gruppi sperimentali.

COMPONENTE	CO		TRT	
	Composizione teorica	Composizione reale	Composizione teorica	Composizione reale
S. SECCA	87.15	89.45	87.01	89.3
PROTIDI	12.28	12.54	10.99	11.3
LIPIDI	4.27	4.2	4.35	4.34
FIBRA	3.7	3.78	3.72	3.74
CENERI	3.68	3.78	3.48	3.48
AMIDO	48.16	50.05	51.75	52.89

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

Tabella 9. Composizione amminoacidica attesa e reale della dieta M121 per i due gruppi sperimentali, a confronto con i fabbisogni amminoacidici riportati da NRC (2012).

Amminoacido	CO			TRT		
	Atteso	Reale	Fabbisogno amminoacidico % (100-135 Kg)*	Atteso	Reale	Fabbisogno amminoacidico % (100-135Kg)*
LYS	0.62	0.71	0.71	0.62	0.68	0.71
	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio Fabbisogno amminoacidico % (100-135Kg)	Ratio atteso	Ratio reale	Ratio Fabbisogno amminoacidico % (100-135Kg)
MET	0.30	0.59	0.30	0.31	0.65	0.30
TRP	0.21	0.30	0.18	0.19	0.28	0.18
THR	0.70	0.68	0.69	0.70	0.46	0.69
ARG	1.10	0.48	0.45	1.05	0.31	0.45
CYSTEIC ACID		1.48			1.59	
ASPARTIC ACID		1.42			1.78	
GLUTAMIC ACID		3.10			2.79	
SERINA		0.63			0.47	
GLICINA		0.82			0.81	
ISTIDINA		0.55	0.35		0.18	0.35
ALANINA		0.89			0.82	
PROLINA		0.68			0.97	
TIROSINA		0.23			0.15	
VALINA		0.62	0.69		0.57	0.69
CISTINA		0.41			0.19	
ISOLEUCINA		0.58	0.55		0.56	0.55
LEUCINA		0.73	1.00		0.87	1.00
FENILALANINA		0.82	0.61		0.66	0.61

* Fabbisogno NRC 2012 espresso in % sulla dieta.

Tabella 10. Timepoint e tipologia di campionamento svolto durante la prova.

TIMEPOINT	RILEVAMENTI
d11	PV ¹ , LS ² , C ³ , GAS, F ⁴
d27	LS, C, GAS
d34	LS, C, GAS
d70	LS, C, GAS
d94	PV, LS, GAS, F, S ⁵
d102	LS, C, GAS
d138	LS, C, GAS
d166	LS, C, GAS
d181-182	PV, LS, GAS, F, S
d185	MACELLAZIONE

¹PV: peso vivo;

²LS: lesioni;

³C: comportamento;

⁴F: feci;

⁵S: setole

Tabella 11. Effetto della dieta a basso contenuto di soia e del sesso sui parametri produttivi individuali “peso vivo (kg)” e “incremento ponderale giornaliero (g/giorno)”. P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	Dieta		SEM	Sesso		SEM	P-value	
	CO	TRT		F	M		Dieta	Sesso
Peso vivo, Kg								
d11	46.8	45.6	1.3	45.2	47.2	1.0	0.48	0.02
d94	124	121	2.1	119	126	1.7	0.33	0.0002
d181	177	180	1.55	175	182	1.5	0.26	0.002
Incremento ponderale giornaliero, g/giorno								
d11-d94	926	908	11	885	948	21	0.28	<0.0001
d94-d181	615	677	16.5	643	649	15.3	0.01	0.76
d11-d181	765	788	8	761	792	8.1	0.04	0.01

¹Parametro: tutti i parametri descritti sono stati rilevati sugli animali con marca auricolare.

Tabella 12. Effetto della dieta a basso contenuto di soia sul consumo di alimento, l'efficienza alimentare ed il numero di soggetti esclusi dalla prova per mortalità o cause sanitarie. P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		Dieta
Consumo alimentare g/giorno				
d11-d94	2285	2328	5.95	0.004
d94-d181	2783	2566	12.2	<0.0001
d11-d181	2619	2525	7.89	<0.0001
Gain to feed				
d11-d94	0.41	0.39	0.003	0.007
d94-d181	0.224	0.263	0.005	0.001
d11-d181	0.295	0.312	0.004	0.01
Mortalità ed esclusione				
d11-d94	7.94	7.26	4.73	0.92
d11-d181	7.94	8.85	4.78	0.89

¹Parametro: tutti i parametri descritti sono stati rilevati sugli animali con marca auricolare.

Tabella 13. Effetto di una dieta a a basso contenuto di soia e del sesso sulla concentrazione di ammoniaca nelle feci ($\mu\text{moli}/\text{grammo}$). P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	Diet		SEM	Sesso		SEM	P-value	
	CO	TRT		F	M		Diet	Sex
NH₃ ($\mu\text{moli}/\text{g}$)								
d11	32.5	35.9	5.34	27.4	41	4.6	0.66	0.01
d181	31	36	3.93	34	32.8	13.7	0.85	0.52

¹Parametro: tutti i parametri descritti sono stati rilevati sul sottogruppo di 24 animali/gruppo.

Tabella 14. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia e del sesso sulla concentrazione di AGV nelle feci (micromoli/grammo). P-value significativo se < 0.05.

AGV, (mmol/g)	Dieta		SEM	Sesso		SEM	Dieta*Sesso				SEM	P-value		
	CO	TRT		F	M		F		M			Dieta	Sesso	Dieta*Sesso
							CO	TRT	CO	TRT				
d11														
lattico	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	0.05	0.04	0.05	0.04	0.03	0.06	0.95	1.00	0.87
acetico	0.26	0.28	0.01	0.26	0.28	0.01	0.26	0.25	0.25	0.30	0.01	0.54	0.34	0.009
propionico	0.12	0.10	0.001	0.11	0.11	0.01	0.12	0.09	0.12	0.10	0.01	0.05	0.66	0.80
isobutirrico	0.01	0.04	0.03	0.02	0.02	0.04	0.01	0.04	0.01	0.03	0.05	0.70	0.99	0.96
butirrico	0.07	0.04	0.01	0.06	0.05	0.01	0.08	0.03	0.06	0.04	0.01	0.0005	0.19	0.10
isovalerico	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.06	0.92	0.97	0.99
d181														
lattico	0.02	0.03	0.04	0.03	0.02	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03	0.05	0.97	0.81	0.88
acetico	0.26	0.25	0.01	0.24	0.25	0.01	0.25	0.22	0.27	0.22	0.02	0.17	0.56	0.76
propionico	0.09	0.10	0.01	0.09	0.09	0.01	0.08	0.10	0.09	0.09	0.01	0.09	0.33	0.16
isobutirrico	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	1.00	1.00	0.99
butirrico	0.04	0.05	0.01	0.04	0.06	0.01	0.02	0.05	0.06	0.06	0.01	0.01	0.002	0.02
isovalerico	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.04	0.96	0.91	0.98

Tabella 15. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia e del sesso sulla concentrazione di cortisolo nelle setole (micromoli/grammo). P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	Dieta		SEM	Sesso		SEM	P-value	
	CO	TRT		F	M		Dieta	Sesso
Cortisolo (pg/mg)								
d94	10.60	10.40	2.73	10.80	10.30	2.34	0.95	0.85
d181	12.18	9.55	4.30	12.00	9.67	3.35	0.66	0.40
DHEA (pg/mg)								
d94	27.9	33.6	4.26	35.6	26.4	4.39	0.34	0.13
d181	24.6	21.8	5.60	25.3	21.1	5.74	0.73	0.60
Cortisolo/DHEA ratio								
d94	0.38	0.31	0.10	0.30	0.38	0.09	0.66	0.42
d181	0.50	0.44	0.22	0.48	0.46	0.19	0.87	0.94

¹Parametro: i parametri descritti sono stati rilevati sul sottogruppo di 20 animali/gruppo.

Tabella 16. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sugli indici di comportamento e di salute rilevate in allevamento sugli animali. P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		
d11				
Lesioni, n				
LSI orecchie	56.3	60.8	8.44	0.72
LSI coda	34.1	68.2	13.5	0.10
d34				
Comportamenti, %				
Riposo	40.6	53.8	5.89	0.15
Suzione	0.00	0.00	0.00	1.00
Interazioni positive	5.58	4.38	0.96	0.40
Interazioni negative	1.44	1.62	0.44	0.78
Esplorazione dell'arricchimento	7.56	1.99	1.22	<0.01
Esplorazione del box	43.8	34.3	7.02	0.36
Altri comportamenti	0.97	3.84	1.21	0.12
Lesioni, n				
LSI orecchie	59.2	91.1	10.9	0.06
LSI coda	55.3	22.9	11.6	0.07
d70				
Comportamenti, %				
Riposo	58.9	68.7	6.14	0.29
Suzione	0.16	0.88	0.39	0.22
Interazioni positive	2.54	3.81	1.45	0.55
Interazioni negative	3.13	0.99	0.98	0.16
Esplorazione dell'arricchimento	1.21	1.21	0.47	0.99
Esplorazione del box	23.4	18.4	4.13	0.42
Altri comportamenti	10.72	6.03	1.72	0.08
Lesioni, n				
LSI orecchie	69.3	74.6	6.95	0.60
LSI coda	5.74	6.03	2.56	0.93
d102				
Comportamenti, %				
Riposo	74.9	82.6	3.42	0.14
Suzione	0.17	0.79	0.46	0.35
Interazioni positive	4.92	3.12	1.04	0.25
Interazioni negative	0.89	0.89	0.52	0.99
Esplorazione dell'arricchimento	2.16	1.63	0.88	0.68
Esplorazione del box	12.2	7.5	2.48	0.21
Altri comportamenti	4.79	3.51	0.97	0.37
Lesioni, n				
LSI orecchie	56.5	41.7	7.24	0.17
LSI coda	29.9	15.8	3.89	0.03

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

d138				
Comportamenti, %				
Riposo	69.9	73.9	4.73	0.56
Suzione	0.16	0.00	0.11	0.34
Interazioni positive	0.79	5.26	1.36	0.04
Interazioni negative	1.33	2.03	1.40	0.73
Esplorazione dell'arricchimento	4.90	1.21	1.38	0.08
Esplorazione del box	12.96	9.55	1.95	0.24
Altri comportamenti	9.97	8.05	2.37	0.58
Lesioni, n				
LSI orecchie	72.9	63.9	10.2	0.55
LSI coda	26.2	26.2	2.63	0.98
d181				
Lesioni, n				
LSI orecchie	103	117	11.8	0.41
LSI coda	80.8	71.6	8.79	0.48

¹Parametro: tutti i parametri descritti sono stati rilevati sugli animali con marca auricolare.

Tabella 15. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sui parametri ambientali dei box.

Le lettere in apice accanto al risultato rappresentano la differenza statisticamente significativa tra i valori del CO e del TRT riferiti allo stesso timepoint. P-value significativo se < 0.05.

Parametro ¹	CO	TRT	P-value			
CO₂						
	d11	0.357 ^a	0.291 ^b	Timepoint	Dieta	Timepoint*Dieta
	d27	0.327	0.332	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	d34	0.252 ^a	0.311 ^b			
	d70	0.201 ^a	0.303 ^b			
	d94	0.162	0.157			
	d102	0.177	0.204			
	d138	0.157	0.149			
	d166	0.135	0.153			
	d181	0.155	0.149			
NH₃						
	d11	11.61 ^a	23.28 ^b	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	d27	16.11 ^a	22.33 ^b			
	d34	9.83 ^a	23.44 ^b			
	d70	8.17 ^a	24.11 ^b			
	d94	6.61	3.22			
	d102	8.00	9.56			
	d138	7.00	8.56			
	d166	7.78	9.22			
	d181	7.22	6.67			

¹Parametro: tutti i parametri descritti sono stati rilevati nei box in cui erano accasati gli animali con marca auricolare.

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

23b	24b	26a	25a
23a	24a	26b	25b
21b	22b	28a	27a
21a	22a	28b	27b
19b	20b	30a	29a
19a	20a	30b	29b
17b	18b	32a	31a
17a	18a	32b	31b
15b	16b	34a	33a
15a	16a	34b	33b
13b	14b	36a	35a
13a	14a	36b	35b
11b	12b	38a	37a
11a	12a	38b	37b
9b	10b	40a	39a
9a	10a	40b	39b
7b	8b	42a	41a
7a	8a	42b	41b
5b	6b	44a	43a
5a	6a	44b	43b
3b	4b	46a	45a
3a	4a	46b	45b
1b	2b	48a	47a
1a	2a	48b	47b

Capannone 1 - TRT

Capannone 2 - CO

Figura 1. Schema di disposizione dei box nei due capannoni in prova. Nei box evidenziati in giallo erano alloggiati i 251 animali selezionati come sotto campione.

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

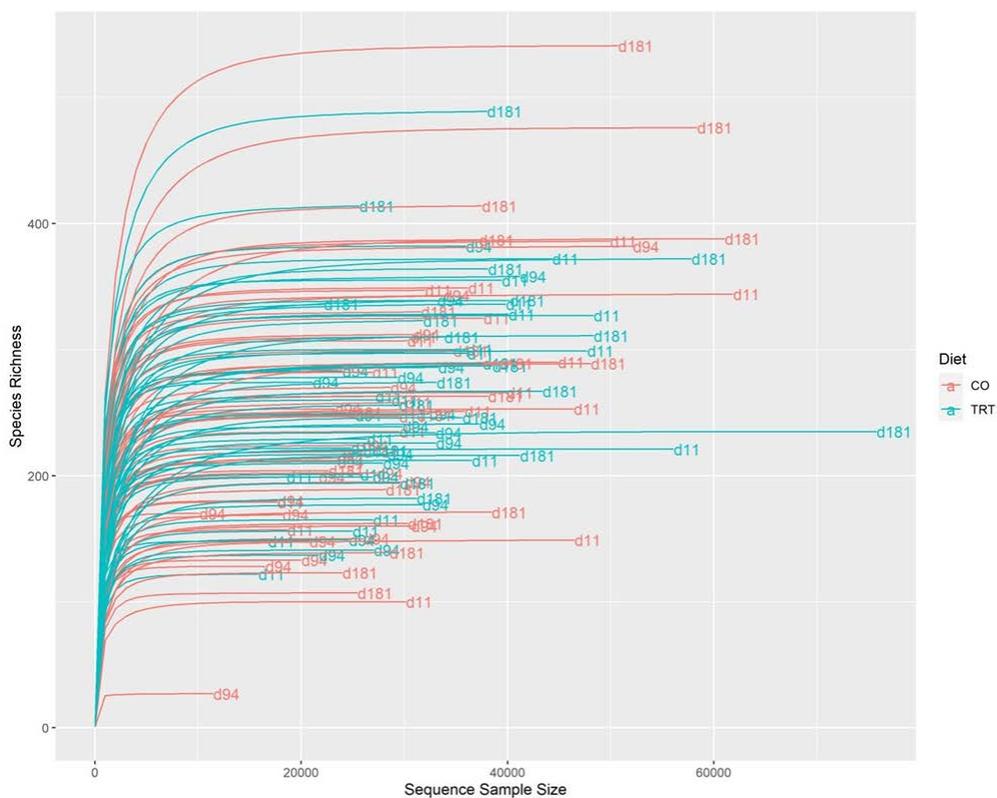


Figura 2. Curva di rarefazione che illustra il rapporto tra il numero di specie osservate e il volume di sequenze genetiche osservate per i diversi gruppi sperimentali.

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

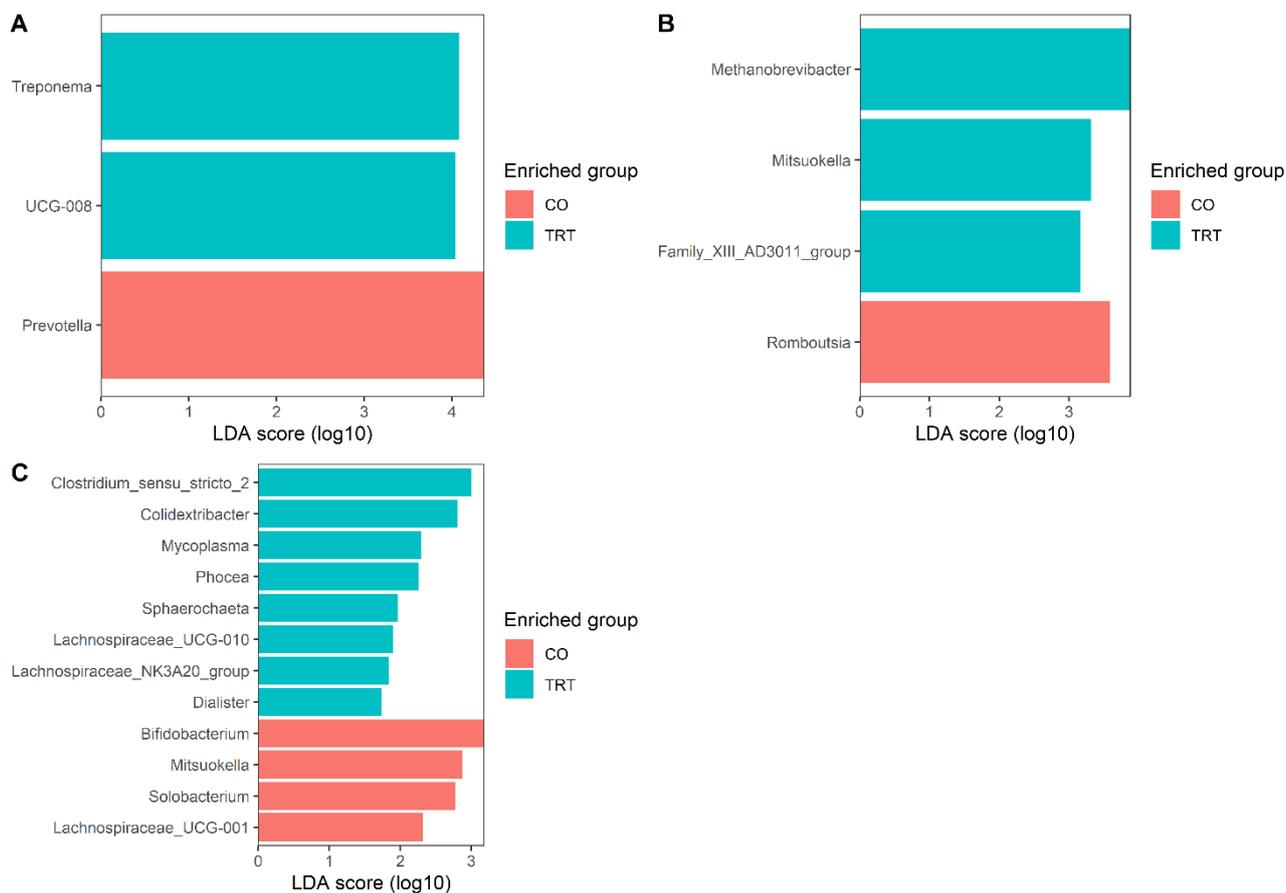


Figura 3. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sui biomarcatori microbici a livello di genere nei campioni fecali dei suini raccolti ai giorni 11 (A) 94 (B) e 181 (C). Lefse = Analisi discriminante lineare e della dimensione dell'effetto; LDA score: punteggio dell'analisi discriminante lineare

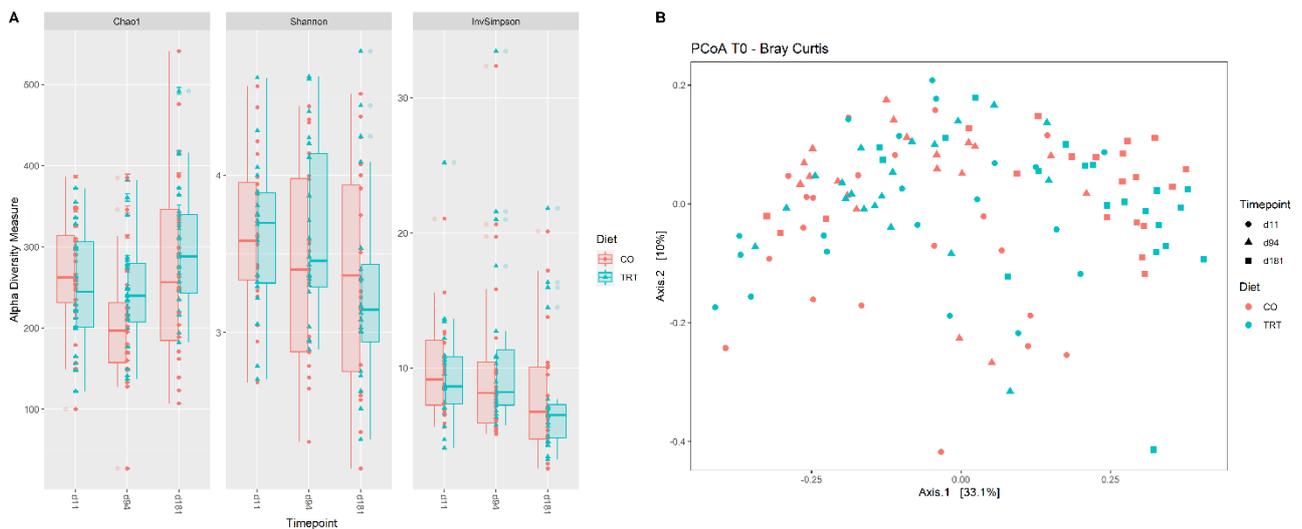


Figura 4. Effetto di una dieta a a basso contenuto di soia e del tempo sugli indici di diversità alfa (A) e beta (B) di campioni fecali di suini pesanti.

A: Indici Chao1, Shannon e Inverse Simpson (InvSimpson) di campioni fecali di suini raccolti ai giorni 11, 94 e 181.

B: Il grafico dell'analisi delle coordinate principali (PCoA) è stato generato utilizzando una matrice di distanza di Bray Curtis basata sulla trasformazione del rapporto logaritmico centrato trasformato dati.

AZIONE 4

EFFETTO DELLA PARZIALE SOSTITUZIONE DELLA SOIA SULLE CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELLA CARNE

Prof. Paolo Trevisi, Prof Massimiliano Petracchi

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

Introduzione

L'aumento della domanda di proteine animali sostenibili e la crescente concorrenza per le terre agricole destinate alla produzione alimentare rendono necessaria la ricerca di alternative per le fonti proteiche destinate agli animali da allevamento (Kim et al., 2019). Infatti, l'alto impatto climatico dei mangimi nella produzione suinicola europea attuale può essere in gran parte attribuito a un'elevata percentuale di inclusione di proteine importate: principalmente la farina di soia (Chiozza et al., 2020), dove soprattutto la deforestazione, ma anche il trasporto, contribuiscono in modo significativo alle emissioni di gas a effetto serra. La separazione geografica tra la coltivazione della soia e la produzione zootecnica disturba il ciclo dei nutrienti, dove l'aumento delle rese di coltivazione aumenta il degrado e l'erosione del suolo e minaccia la biodiversità nei paesi di produzione (Taelman et al., 2015; Stødkilde et al., 2023). Una delle principali strategie raccomandate dalla Comunità Europea per ridurre l'impatto ambientale delle produzioni zootecniche e ridurre la dipendenza degli Stati membri verso forniture di materie prime extra UE è la formulazione di diete a minor contenuto proteico e basate sull'impegno di fonti proteiche, alternative alla soia, coltivate in Europa.

In questo contesto, la produzione suinicola italiana, notoriamente maggiormente impattante rispetto alla produzione suinicola europea in quanto basata sulla produzione di suino pesante (Bava e colleghi 2017) regolamentata da specifici disciplinari di produzione pone alcune limitazioni. Tali limitazioni sono da ricondurre alla possibilità di inclusione di talune materie o alla quota della loro inclusione in formula con il fine ultimo di non danneggiare la qualità del prodotto finale.

Il presente progetto si è posto l'obiettivo di testare gli effetti dell'impegno di fonti proteiche alternative alla soia, locali e consentite dal disciplinare del Prosciutto di Parma, quali farina di estrazione di girasole e farina di pisello sulla qualità della carne del suino pesante italiano per rendere il sistema produttivo più competitivo riducendo la pressione ambientale della suinicoltura, allineandosi con gli obiettivi della strategia Farm to Fork in ottica di una "transizione green" del sistema di allevamento.

Il pisello, analiticamente, presenta una buona disponibilità di amminoacidi, in particolare lisina e arginina, non presenta alti livelli di fattori anti-nutrizionali come tannini, ma contiene fibra poco digeribile per i monogastrici e bassi livelli di amminoacidi solforati, in particolare di metionina. In termini di impatto ambientale, la coltivazione di piselli in sistemi di rotazione richiede un uso ridotto di fertilizzanti azotati e, pertanto, è associata a costi di produzione inferiori (White et al., 2015). Ad ogni modo, la diffusione dell'impiego di questa proteina nelle diete dei non ruminanti non è stata elevata a causa delle preoccupazioni legate al numero di cultivar diverse disponibili, all'irregolarità dell'approvvigionamento e ai costi elevati oltre che alla presenza di fattori anti-nutrizionali (es. fattore antitripsinico) (Masey O'Neill et al., 2012).

Per quanto riguarda gli effetti sui principali parametri delle carcasse, il pisello utilizzato in sostituzione totale o parziale della farina di soia ha quasi sempre dato risultati paragonabili alla soia (Parrini et al., 2023). Izquierdo e colleghi (2020) hanno sostituito completamente la farina di soia con diverse varietà di pisello e non hanno osservato differenze significative nelle componenti magre e grasse della carcassa. Lo stesso andamento è stato osservato da de Quelen et al. (2021), che hanno testato due diete a minor impatto ambientale, le quali includevano farina di pisello. Gli stessi autori, così come Sobotka e Fiedorowicz-Szatkowska (2021), hanno mostrato risultati comparabili in termini di resa della carcassa e componenti magre rispetto al gruppo di controllo, alimentato con farina di soia. Hanczakowska e Świątkiewicz (2014), utilizzando una dieta con piselli in sostituzione della farina di soia per il 50% nel periodo di magronaggio e per il 100% nel periodo di finissaggio, non hanno evidenziato differenze nello spessore del grasso della carcassa, così come nella resa del lombo. Degola e Jonkus (2018) sostituendo la farina di soia con due livelli di inclusione di pisello, non hanno riscontrato differenze nelle caratteristiche della carcassa. Altri studi in cui la sostituzione della soia prevedeva una sua graduale riduzione in favore dell'inclusione di pisello non hanno evidenziato differenze riguardanti le principali caratteristiche della carcassa (Sońta et al., 2022; Smith et al., 2013).

Per quanto riguarda la farina di girasole invece, si può notare che quest'ultima presenta ottimi valori di digeribilità delle proteine (89%), comparabili con quelli della farina di estrazione di soia (90,6%) (González-Vega and Stein, 2012). La farina di girasole ha un contenuto maggiore di amminoacidi solforati e soprattutto di metionina rispetto ad altre fonti proteiche, sebbene il contenuto di lisina sia inferiore rispetto a quello della soia. Inoltre, la farina di girasole è una preziosa fonte di calcio, fosforo e vitamine del gruppo B oltre ad avere un basso contenuto di fattori anti-nutrizionali e di composti fenolici come l'acido clorogenico e i tannini (Skoufos, 2014).

L'impegno di questo ingrediente nella dieta del suino pesante non ha mostrato effetti negativi su alcuni dei principali parametri qualitativi quali pH, colore e composizione chimica della carne, in particolare del muscolo *Longissimus dorsi* (Mordenti e colleghi 2012). Tuttavia, secondo Vaclavkova et al. (2011), l'inclusione di farina di girasole nella dieta di suini da ingrasso ha determinato un contenuto più elevato di acidi grassi polinsaturi nei campioni di *Longissimus dorsi* e di grasso dorsale degli animali. Secondo altri ricercatori, la presenza di questa materia prima nella dieta ha aumentato il contenuto di grasso nelle carcasse dei suini rispetto a quelli alimentati con farina di soia (Hur et al., 2007).

Obiettivo

L'obiettivo del presente studio è stato quello di verificare l'impatto del piano alimentare adottato nell'Azione 3 basato sulla sostituzione di una quota di farina di estrazione di soia con farina di pisello e girasole e dalla riduzione della quantità di proteine nella terza fase di alimentazione sulle caratteristiche della carcassa e la qualità della carne e le sue caratteristiche tecnologiche.

Materiali e metodi

Animali, lotto in prova e campionamenti

In continuità con l'Azione 3, raggiunto il peso di macellazione, i suini sono stati trasportati e macellati presso il macello del Gruppo Martini di Castiglione di Ravenna (RA). Gli animali rimasti in prova e inviati al macello erano 891 per il gruppo di controllo (CO) e 871 per il gruppo ricevente il trattamento (TRT). La **Tabella 1** riporta le partite di animali inviate al macello, il numero di animali che costituiscono ciascuna partita, il gruppo sperimentale di appartenenza, la data della macellazione che, essendo diversa tra le partite ha comportato una durata diversa della permanenza in sito 3 degli animali, ed infine il peso vivo medio degli animali registrato dal camion. Per il gruppo CO la media dei giorni di permanenza in sito 3 considerando tutte le partite è stato di 183,1, mentre per il gruppo TRT la media dei giorni di permanenza in sito 3 considerando tutte le partite è 184,9.

Per tutte le carcasse degli animali in prova sono stati registrati i dati relativi a lesioni, classificazione SEUROP e composizione della carcassa.

Inoltre, per il sottogruppo di 20 animali/gruppo dai quali durante l'Azione 3 erano stati prelevati campioni di feci e setole, la carcassa è stata identificata mediante un cerchio disegnato attorno al numero progressivo (**Figura 1**) e seguita durante il processo di macellazione al fine di poter raccogliere per ciascuna carcassa un campione di muscolo (*Longissimus lumborum*) e di lardo dorsale.

I parametri valutati sul muscolo *L. lumborum* comprendono le principali caratteristiche tecnologiche tra cui il pH ed il colore misurati 45 minuti e 24 ore dopo la macellazione mediante l'utilizzo di un pH-metro ad infissione (HI98163, Hanna Instruments, Padova, Italy) e colorimetro tristimolo (CR-400 Konica Minolta, Milano, Italy), la capacità di ritenzione idrica durante la conservazione refrigerata (*drip loss*) ed in seguito a cottura (*cooking loss*), lo sforzo di taglio mediante texture analyser e il livello di ossidazione della frazione lipidica (mediante quantificazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico).

In aggiunta a queste analisi svolte dal personale di Unibo, Martini con il proprio personale interno, ha effettuato ulteriori test specifici per verificare l'impatto delle diverse formulazioni di alimentazione sulla qualità della carne. I test effettuati completano la valutazione delle caratteristiche tecnologiche mediante acidogramma, finalizzato alla valutazione del contenuto

lipidico ed al profilo degli acidi grassi contenuti nel muscolo per valutare aspetti quali tenerezza, aroma e succosità della carne, determinazione del numero di iodio secondo il metodo Wijs e dei perossidi sia su lardo sia su muscolo, al fine di valutare il grado di insaturazione del grasso. Altro elemento oggetto di valutazione sono state le caratteristiche organolettiche della carne, ovvero la valutazione dei parametri riconducibili ad una valutazione soggettiva da parte del consumatore, fondamentale per la valorizzazione delle produzioni. Attraverso attrezzature specifiche sono state analizzate caratteristiche quali colore, odore e sapore.

Sulla linea di macellazione il personale Unibo, coadiuvato dal personale del Gruppo Martini, ha effettuato i rilievi legati al benessere degli animali. Per tutte le partite è stato assegnato un punteggio per le lesioni secondo il protocollo Welfare Quality® 2009 che prevede di valutare 6 aree della carcassa (**Figura 2**) e per ciascuna area è stato assegnato un punteggio da 0 a 2 per classificare il grado di lesioni.

In particolare, il punteggio 0 è attribuito a quelle regioni che presentano fino ad una lesione, il punteggio 1 è attribuito alla regione che presenta da 2 a 10 lesioni, mentre il punteggio 2 è assegnato alle regioni che presentano più di 10 graffi superficiali o una ferita che penetra il tessuto muscolare. Si considera una lesione un qualsiasi graffio che superi i 2 cm di lunghezza. Una lesione sanguinante lunga tra i 2 e i 5 cm, oppure una ferita rimarginata di più di 5 cm vengono considerate come 5 lesioni. Mentre una ferita profonda e aperta con una lunghezza superiore ai 5 cm viene considerata come 16 lesioni. Infine, due graffi paralleli distanti tra loro fino a 0.5 cm sono considerati come un'unica lesione (Assessment protocol for pigs Welfare Quality®). Il punteggio assegnato viene poi classificato in percentuale di animali con punteggio 0, percentuale di animali con punteggio 1 e percentuale di animali con punteggio 2. Quindi, il risultato è stato espresso come la prevalenza dei punteggi ottenuti per ogni regione. È stato quindi calcolato un indice di punteggio delle lesioni (LSI), che considerava sia la frequenza sia la gravità delle lesioni. La formula per il calcolo dell'LSI è la seguente:

$$LSI = [\% \text{ lesioni di tipo 1} + (2 * \% \text{ lesioni di tipo 2})]$$

Classificazione e composizione delle carcasse

La classificazione delle carcasse e gli ulteriori dati raccolti attraverso l'utilizzo dello strumento FOM (Fat-OMeter) sono stati registrati per tutte le carcasse di tutte le partite. Secondo quanto previsto dal Reg. comunitario 1308/13, le carcasse suine sono ripartite in sei classi in base al tenore stimato di carne magra:

- classe "S" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa $\geq 60\%$

- classe "E" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa compreso tra 55% e 60%
- classe "U" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa compreso tra 50% e 55%
- classe "R" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa compreso tra 45% e 50%
- classe "O" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa compreso tra il 40% e 45%
- classe "P" sono caratterizzate da una percentuale di carne magra/peso della carcassa < 40%

Considerando che le classi "S" e "P" sono escluse dalle produzioni DOP (Denominazione di Origine Protetta), in questo studio è stata calcolata la percentuale di carcasse la cui classe ne consentisse l'utilizzo nel circuito DOP.

Tramite l'impegno del FOM è inoltre possibile registrare i seguenti parametri: "Peso Caldo", "Peso Carcassa CE", "Peso Freddo", percentuale di carne magra, lo spessore in millimetri del grasso e lo spessore in millimetri del muscolo per tutte le carcasse in prova. In particolare, il "Peso Caldo" rappresenta il dato reale rilevato al macello relativo al peso della carcassa. Il "Peso Carcassa CE" rappresenta un peso della carcassa corretto per il peso della rimozione della sugna al fine di standardizzare il dato e renderlo confrontabile i dati rilevati a livello europeo. Il "Peso Freddo" è invece ottenuto in seguito alla sottrazione del 2% di peso al il peso caldo.

Allo stesso modo i dati riferiti alle caratteristiche delle cosce per ogni partita macellata e facente capo al sito 3 coinvolto nella prova sono stati raccolti secondo la metodologia impiegata dal gruppo Martini.

Per le partite costituite dal campione di animali con marca auricolare i punteggi delle lesioni e i dati del FOM sono stati raccolti individualmente, quindi associando il dato raccolto al numero dell'animale. Infatti, il personale Unibo coadiuvato dal personale del macello, si è occupato di prendere nota del numero scritto sulla marca auricolare e associarlo ad un numero progressivo scritto al momento sulla carcassa con una matita alimentare, così da poter distinguere ciascun animale anche dopo la rimozione della testa.

Misurazione del pH

La misurazione del pH rappresenta il metodo più utilizzato per valutare la velocità e l'entità dell'acidificazione post-mortem. La misurazione di questo parametro è stata condotta 45 minuti post-mortem e 24 ore post-mortem (pH ultimo) mediante l'utilizzo di un pH-metro ad infissione (Hanna Instrument, Padova, Italia) inserendo la sonda ad una profondità di circa 2 cm all'interno del muscolo *L. lumborum*. Il pH-metro, dotato di una sonda di temperatura in grado di correggere i

valori di pH in funzione della stessa, è stato precedentemente tarato utilizzando soluzioni tampone a pH 4,0 e a pH 7,0.

Misurazione del colore

Il colore della carne costituisce un fattore di primaria importanza, in quanto influenza i consumatori al momento dell'acquisto. Esso rappresenta inoltre uno dei principali indicatori della qualità delle carni stesse nonché della loro attitudine alla trasformazione.

Il colore del lombo è stato misurato (in triplicato) 45 minuti e 24 ore post-mortem mediante l'utilizzo di un colorimetro Minolta® CR-400 in condizioni di illuminazione (illuminante C) ed angolo di osservazione (2°) standardizzate. Prima della misurazione, il colorimetro è stato calibrato mediante l'impiego di una mattonella di materiale ceramico di colore bianco. Per esprimere oggettivamente il colore è stato utilizzato lo spazio di colore CIELAB (CIE, 1976) che consente di definire e rappresentare univocamente il colore di un oggetto in funzione di tre coordinate: la luminosità (L^*), l'indice di rosso (a^*) e l'indice di giallo (b^*).

Determinazione della capacità di ritenzione idrica

La capacità di ritenzione idrica delle carni è stata quantificata mediante determinazione delle perdite di liquido per sgocciolamento durante la conservazione refrigerata (*drip loss*) ed in seguito all'applicazione di un trattamento termico (*cooking loss*).

Per la determinazione del *drip loss*, da ciascun muscolo *L. lumborum* è stato ricavato un sotto-campione di forma parallelepipedica (dalle dimensioni di 8 × 4 × 3 cm) caratterizzato da un peso pari a circa 70 g. I campioni così preparati sono stati pesati e posizionati (in modo randomizzato) all'interno di vaschette di materiale plastico caratterizzate dalla presenza di un doppio fondo grigliato (rete in polietilene) e conservati per 48 ore alla temperatura di 4 ± 1°C. Successivamente, i campioni sono stati tamponati con carta assorbente per eliminare l'eccesso di liquido accumulatosi sulla superficie, e pesati allo scopo di calcolare la percentuale di liquido perso nel corso della conservazione secondo la seguente formula:

$$\text{Drip loss (\%)} = [(peso_i - peso_{48h}) / (peso_i)] \times 100$$

Dopo la determinazione del *drip loss*, i campioni sono stati confezionati singolarmente sottovuoto (99,9%) all'interno di sacchetti di materiale plastico termoresistente e sottoposti a cottura all'interno di un bagno termostato alla temperatura di 80°C (fino al raggiungimento della medesima temperatura al cuore allo scopo di evitare gradienti di temperatura interni al campione). Al termine della cottura, i campioni sono stati lasciati raffreddare in acqua, rimossi dalle buste di plastica, asciugati con carta assorbente e pesati al fine di calcolare la perdita di liquido per cottura.

In particolare, il quantitativo di liquido perso a seguito dell'applicazione del trattamento termico è stato espresso in termini percentuali secondo la formula:

$$\text{Cooking loss (\%)} = \frac{(\text{peso}_{48h} - \text{peso}_{\text{cotto}})}{\text{peso}_{48h}} \times 100$$

Determinazione dello sforzo di taglio

La misura dello sforzo di taglio è un parametro in grado di fornire indicazioni circa la tenerezza dei campioni, definita come la facilità con cui la carne si lascia tagliare o masticare.

Per la determinazione dello sforzo di taglio, ciascun campione utilizzato per la quantificazione del *cooking loss* è stato destinato ad analisi mediante l'utilizzo di un Texture Analyzer (TA-HDi Texture Analyzer, Stable Microsystem) equipaggiato con una cella di carico da 5 kg ed un *probe* tipo Blunt-MORS regolato ad una velocità di discesa della lama pari a 10 mm/sec. Per la misurazione, i campioni sono stati diposti all'interno della cella di misura in modo tale che la lama risultasse perpendicolare rispetto all'orientamento delle fibre muscolari. Lo sforzo di taglio risultante è stato espresso in kg.

Determinazione dell'ossidazione lipidica

La determinazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS) è stata condotta secondo la metodica proposta da Bao & Ertbjerg (2015). In particolare, 5 g di campione sono stati omogeneizzati mediante Ultra-Turrax (per 30 secondi alla velocità di 13.000 rpm) in 0,5 ml di butil idrossitoulene (BHT; 4,2% w/v in etanolo) e 15 ml di acido tricloroacetico (TCA) al 5%. Successivamente i campioni sono stati filtrati mediante carta da filtro Whatman 1; è stata prelevata un'aliquota da 2 ml a cui sono stati aggiunti 2 ml di acido tiobarbiturico (TBA) 0,02 M. In seguito, i campioni sono stati posti in incubazione a 100 °C per 40 minuti, al fine di favorire la reazione tra i prodotti secondari dell'ossidazione lipidica e l'acido tiobarbiturico. Al termine del periodo di incubazione, i campioni sono stati raffreddati in acqua corrente e ne è stata letta l'assorbanza a 532 nm, utilizzando come riferimento una curva di calibrazione preparata con 1,1,3,3-dimetiltetraidrossipropano a concentrazioni crescenti. Il contenuto di TBARS è stato quindi espresso come mg MDA/kg di carne.

Determinazione dell'acidità

L'acidità viene espressa come percentuale di acido oleico ed è un indice della qualità del grasso: un'acidità più bassa indica un numero maggiore di acidi grassi insaturi legati al glicerolo. Per calcolarla si procede pesando all'interno di un pallone di vetro 5 g di grasso e registrando la pesata; nel pallone si aggiungono quindi 100 ml di miscela etanolo/esano precedentemente preparata. Si procede alla titolazione della soluzione con NaOH 0,1 N fino a viraggio dal giallo al verde.

Il valore percentuale dell'acidità viene espresso dalla seguente formula:

$$\% \text{ acidità} = ((A \times N) \times B) / P$$

A= ml di NaOH impiegati

N= fattore di normalità della soluzione titolante (0.1)

P= peso iniziale del campione utilizzato

B= fattore che varia a seconda del tipo di acidità che si vuole esprimere (acidità oleica = 28,2; acidità palmitica = 25,6; acidità laurica = 20).

Determinazione del numero di perossidi

Per la determinazione del numero di perossidi si prepara al momento la soluzione di ioduro di potassio aggiungendo potassio ioduro in polvere e acqua distillata; la soluzione deve essere satura, quindi procedere aggiungendo polvere di ioduro di potassio fino a che non rimane in soluzione (non completamente disciolta). Si procede pesando all'interno di un pallone di vetro 5 grammi del prodotto (grasso) e registrando tale pesata. Nel pallone si aggiungono quindi 25 ml della miscela acido acetico/cloroformio e 0,5 ml della soluzione satura di ioduro di potassio; agitare bene, tappare e lasciare a riposo al buio per 5 minuti esatti. Trascorso tale periodo si aggiungono 80 ml di acqua distillata, alcuni ml di salda d'amido (indicatore) e si titola con tiosolfato di sodio 0,01N fino a passaggio dal nero al biancastro. Il valore dei perossidi, espresso come meq-0²/Kg, viene dato dalla seguente formula:

$$\text{valore di perossidi} = ((V \times N) \times 1.000) / P$$

V = ml della soluzione di tiosolfato impiegati per la titolazione;

N = fattore di normalità della soluzione di tiosolfato (0,01);

P = grammi inizialmente pesati.

Determinazione del numero di iodio

Si procede pesando all'interno di un pallone di vetro 0,5 g di campione di grasso e registrando tale pesata; nel pallone si aggiungono quindi 15 ml cloroformio e si agita fino a dissoluzione della sostanza grassa. Si introducono quindi 25 ml di reattivo di Wijs e 10 ml di soluzione di mercurio acetato-ico al 2,5 %, si chiude il pallone con il tappo, si agita dolcemente e si lascia a riposo per 5 minuti al buio. Al termine di questo periodo si aggiungono 20 ml della soluzione di ioduro di potassio e 100 ml di acqua distillata e si procede titolando la soluzione con sodio tiosolfato 0,1 N; quando la soluzione ha raggiunto una colorazione più chiara rispetto al nero iniziale, si aggiunge 1 ml di salda d'amido (indicatore) e si prosegue la titolazione fino ad una colorazione biancastra. Il valore del numero di iodio, espresso come gI₂/100g, viene dato dalla seguente formula:

$$\text{numero di iodio} = (((V1 - V) \times N) \times 12,69) / M$$

V1 = ml di soluzione di sodio tiosolfato impiegato nella prova

V = ml di sodio tiosolfato impiegato nell'analisi

N = fattore di normalità della soluzione di sodio tiosolfato (0,1)

M = grammi di campione inizialmente pesati

Analisi statistica

Analisi statistiche e descrittive sono state effettuate tramite l'utilizzo del software R. I dati forniti dal FOM e le caratteristiche tecnologiche della carne sono stati analizzati tramite la funzione "lm" del pacchetto lme4 ed utilizzando un modello lineare. I fattori fissi considerati sono stati il trattamento dietetico ed il sesso, laddove noto. Per i dati che non seguivano una distribuzione normale (luminosità a 45 minuti, b*, drip loss, acidità di lardo e muscolo, e il numero di iodio per il lardo), è stata effettuata una normalizzazione logaritmica prima delle analisi. Inoltre, tramite il test di Grubb sono stati esclusi gli outliers. Per quel che riguarda i difetti delle cosce, questi sono stati analizzati con un modello lineare generalizzato e nel caso in cui la distribuzione dei dati avesse seguito la cosiddetta curva di Poisson, questo parametro sarebbe stato incluso all'interno del modello statistico.

Risultati

La **Tabella 2** riporta i risultati relativi all'effetto della dieta su LSI (*Lesion Score Index*) delle diverse aree anatomiche a cui è stato attribuito un punteggio per classificare il grado di lesioni. Vi sono differenze statisticamente significative sia per l'LSI degli arti ($P=0.001$), sia per l'LSI del busto nella sua parte craniale ($P=0.04$). In entrambi i casi il valore minore, quindi migliore, è sempre quello relativo al gruppo TRT. Allo stesso modo, a favore del gruppo TRT vi è una tendenza anche riguardante l'LSI del busto, nella sua parte distale ($P=0.07$). Per quanto riguarda l'LSI delle orecchie non vi sono differenze significative ($P>0.05$).

I risultati dell'effetto della dieta sulle caratteristiche delle carcasse di tutti gli animali in prova sono riportati in **Tabella 3**. La dieta non ha influenzato nessuno dei parametri registrati dal FOM ($P>0.05$).

La **Tabella 4** riporta i risultati dell'effetto delle diete sperimentali sui difetti delle cosce documentati dal personale del gruppo Martini al macello. Al netto degli scarti le cosce valutate erano 1.770 per il gruppo CO e 1.734 per il gruppo TRT. Sulla base dei difetti della coscia si evidenzia una maggiore percentuale di cosce scartate ($P=0.05$) appartenenti al gruppo CO. Nel dettaglio, tra le cosce del gruppo CO si è registrata una percentuale maggiore ($P=0.02$) di ematomi.

La **Tabella 5** mostra risultati dell'effetto della dieta sui parametri delle carcasse, le caratteristiche tecnologiche e la qualità della carne e del lardo riferita al sottogruppo di 20 animali per trattamento in funzione della dieta e del sesso. In questo caso, la dieta ha teso ad influenzare la percentuale di carne magra ($P = 0.07$), lo spessore del grasso ($P = 0.07$) e del muscolo ($P = 0.10$). Infatti, prendendo come riferimento questo sottogruppo di animali si evidenzia per il gruppo CO una maggiore percentuale di carne magra, una riduzione dello spessore del grasso rispetto al gruppo TRT e, sempre rispetto a quest'ultimo, un maggiore spessore del muscolo. Non vi sono altri effetti significativi né dovuti alla dieta né al sesso per quanto riguarda i parametri registrati dal FOM.

Nel caso delle caratteristiche qualitative e delle proprietà tecnologiche delle carni ottenute dal muscolo *L. lumborum*, la dieta ha influito significativamente sulla percentuale di perdita di acqua per sgocciolamento (*drip loss*) ($P = 0.03$), il pH a 24 h ($P = 0.05$) e ha mostrato una tendenza per il pH a 45 min ($P = 0.06$). In particolare, se paragonati a CO, i muscoli *L. lumborum* del gruppo TRT hanno presentato maggiori valori di *drip loss* associati a valori di pH inferiori. Il pH a 24 h è stato inoltre influenzato dal sesso ($P = 0.07$). La carne dei maschi ha presentato un pH maggiore. Il sesso, inoltre, ha influenzato significativamente la luminosità a 24 h ($P = 0.01$), che è risultata maggiore nella carne proveniente dalle femmine. Nel caso della qualità della carne, nessuno dei parametri presi in considerazione è stato influenzato dal trattamento alimentare, mentre il sesso dell'animale ha tendenzialmente modificato l'acidità percentuale del muscolo ($P = 0.06$), risultata superiore nel genere femminile, ed il numero di iodio del lardo ($P = 0.09$), risultato superiore nel genere maschile. La **Tabella 6** riporta i risultati dell'effetto della dieta sulla composizione lipidica del muscolo *L. lumborum*. La dieta sperimentale non ha influenzato il contenuto totale di grasso nel muscolo, mentre il sesso ha modulato questo parametro ($P=0,02$), infatti, i suini di sesso maschile presentano una quantità maggiore di grasso. In merito alla composizione del grasso, nessuno degli acidi grassi esterificati analizzati ha mostrato differenze significative in relazione al trattamento alimentare. Anche in questo caso il sesso ha teso ad influenzare la concentrazione di acido arachidico ($P=0.10$) e acido linoleico ($P=0.10$), i quali sono entrambi più abbondanti nel muscolo degli animali di sesso maschile.

Discussione

I risultati della prova hanno dimostrato che sul totale dei 1.762 animali macellati, di cui 891 appartenenti al gruppo CO e 871 del gruppo TRT, non vi erano differenze significative riguardanti i parametri della carcassa registrati dal FOM. In accordo coi nostri risultati, anche Mordenti et al. (2001) testando una dieta composta da fonti proteiche alternative tra cui la farina di girasole, in sostituzione della farina di soia, non hanno evidenziato differenze correlate alla dieta per questi parametri. Anche de Carvalho Carellos et al. (2005) non hanno riscontrato differenze riguardanti i principali parametri delle carcasse di suini a cui avevano somministrato diete con percentuali

diverse di inclusione di farina di girasole in sostituzione della soia. Ad ogni modo, gli stessi parametri, analizzati sul sotto-campione di animali identificati da marca auricolare, evidenziano una tendenza nelle carcasse del gruppo TRT ad avere un aumentato spessore del grasso. Di conseguenza, lo spessore del muscolo ed in generale la percentuale della carcassa risultano tendenzialmente più alti nel gruppo CO. Tali risultati sono in contrasto con quelli riportati da Sirtori et al. (2015), i quali hanno sostituito completamente la soia con la farina di pisello rilevando che lo spessore del grasso, era maggiore nel gruppo alimentato con la soia. Anche Stein et al. (2006) hanno osservato un effetto della soia nell'aumentare la muscolosità, lo spessore del muscolo e del grasso. Eppure, gli stessi autori, hanno sottolineato che studi europei meno recenti avevano riscontrato che la percentuale di carne magra si riduceva e lo spessore del lardo dorsale aumentava con l'incremento delle concentrazioni di piselli nella dieta (Carroue e Gatel, 1995). Tuttavia, è stato anche dimostrato che questa situazione può essere migliorata includendo Met e Trp di sintesi nelle diete. Di fatto, è stato ipotizzato che gli effetti negativi osservati in alcuni studi in seguito all'integrazione della dieta con il pisello era da attribuirsi maggiormente ad uno squilibrio del profilo degli AA che al pisello per Setein (2006). Nel presente studio, le diete erano iso-amminoacidiche, per cui gli effetti osservati non possono essere ascritti a questo aspetto. Rimane quindi da approfondire la modalità in cui la presenza di pisello ed il girasole nella dieta possa interagire con la fisiologia dell'animale determinando una maggiore deposizione di grasso a discapito del muscolo.

Sempre dal sotto-campione di animali identificato dall'orecchino numerato, sono stati prelevati campioni di muscolo (*Longissimus lumborum*) e lardo per analisi più approfondite sulla qualità di questi prodotti. Dalle analisi condotte sul muscolo sono emerse delle differenze significative ascrivibili alla dieta. In particolare, il pH delle carcasse TRT è risultato più basso di quelle del gruppo CO, sia per quanto concerne la misurazione condotta 45 min sia quella rilevata 24 ore *post-mortem*. È noto che subito dopo la macellazione, il pH diminuisce come risultato dell'accumulo a livello muscolare degli ioni H⁺ che derivano dalla glicolisi. La rapidità e l'entità dell'acidificazione *post-mortem* sono aspetti di fondamentale importanza per le caratteristiche qualitative e le proprietà tecnologiche delle carni (ivi compresa la loro attitudine alla trasformazione). Infatti, un repentino abbassamento del pH, che si verifica quando la temperatura della carcassa è ancora elevata, può determinare lo sviluppo delle carni "pallide, soffice ed essudative" (PSE), che presentano una ridotta capacità di trattenere l'acqua. L'origine del problema è da ricercarsi principalmente negli stress *ante-mortem* (Petrova et al., 2015). È il caso di soffermarsi sul fatto che i valori di pH rilevati nei campioni di muscolo di entrambi i gruppi sono leggermente inferiori rispetto ai valori di riferimento per le carni "normali" dall'Institut Technique du Porc in Francia (ITP, 1998). Questi infatti hanno definito che le carni suine "normali" dovrebbero avere un pH a 45 min maggiore di 6, o comunque non inferiore a 5,8 per non rientrare nella classe "tendenza PSE". Allo stesso modo, il pH a 24 ore

della carne “normale” dovrebbe essere compreso tra 5,6 e 6,0. Di conseguenza, tutte le carni campionate in questa prova rientrano nella classificazione di carni “acida”, poiché caratterizzate da un pH ultimo inferiore a 5,5. Generalmente la carne acida presenta un colore chiaro, che le attribuisce punteggio pari a 1 nella scala da 1 a 6 della classificazione del colore stabilita dal National Pork Producers Council (1999). Nel nostro caso però, le carni presentano un colore normale, rientrando nel punteggio 3. Altri studi hanno testato l'effetto di farina di girasole e pisello sulla qualità della carne suina senza però riscontrare differenze significative riguardanti il pH (Mordenti et al., 2012; Gatta et al., 2013; Sirtori et al. 2015). Ad ogni modo, sebbene per entrambi i gruppi si sia riscontrato un pH piuttosto basso, la carne del gruppo TRT mostra anche una capacità di ritenzione idrica ridotta rispetto ai campioni del gruppo CO; nonostante in passato la ricerca abbia dimostrato che la capacità di ritenzione idrica della carne fresca di suino non sia influenzata dalla fonte proteica impiegata nella formula (Szabó et al., 2001; Apple et al., 2003). Goodband et al. (1990) hanno riportato una correlazione tra i livelli di lisina nella dieta ed il drip loss della carne: quest'ultimo aumentava nelle diete in cui la percentuale di lisina era inferiore. Nel nostro studio, in ogni caso, la somministrazione di diete iso-amminoacidiche esclude tale possibilità. Piuttosto, alcuni autori hanno evidenziato che le alte temperature ambientali e stress da trasporto possono condizionare la quantità di glicogeno nel muscolo, in particolare riducendolo (Pettigrew e Esnaola, 2001). Questo determina una maggiore incidenza di difetti nella carne, in particolare dei casi di carne PSE. Considerato che le macellazioni di questa prova si sono tenute durante uno dei periodi più caldi dell'anno questo potrebbe aver influito negativamente sui risultati presentati in questo elaborato. Ad ogni modo, nel nostro studio gli altri parametri analizzati non hanno subito variazioni ascrivibili alla dieta. Anche la composizione lipidica del muscolo *Longissimus lumborum* non è stata modificata in seguito alla somministrazione della dieta TRT, a differenza di quanto emerso nello studio di Vaclavkova et al. (2011). Questi ricercatori hanno evidenziato un contenuto più elevato di acidi grassi polinsaturi (PUFA) nei campioni di muscolo (*Longissimus dorsi*) e di lardo dorsale dei suini da ingrasso a seguito dell'inclusione di farina di girasole nella dieta di suini da ingrasso. Anche questo è un aspetto che deve essere valutato con attenzione nella produzione dei prosciutti nazionali a denominazione di origine protetta (DOP) che caratterizzano il sistema produttivo del suino pesante italiano.

Infine, è bene considerare i dati riguardanti l'LSI delle carcasse; le carcasse del gruppo CO presentano punteggi tendenzialmente peggiori a confronto con le carcasse TRT. Questo dato è coerente con quanto riscontrato dal personale del macello nel rilevamento dei difetti delle cosce. Infatti, essi hanno registrato una frequenza significativamente maggiore di ematomi nelle cosce CO. È ampiamente riportato che la farina di girasole ha un maggior contenuto di fibra insolubile e quindi una minore digeribilità rispetto alla farina di soia (Lannuzel et al., 2022), di conseguenza,

modificazioni della dieta e della sua stessa digeribilità, possono influire sul comportamento degli animali, a causa della diversa cinetica di digestione che può influenzare il senso di sazietà. Tali aspetti potrebbero aver determinato una maggiore irrequietezza negli animali del gruppo CO, determinando una maggiore intensità delle interazioni aggressive. Questi aspetti non sono stati evidenziati nella fase di allevamento, dove solo le lesioni a coda e orecchie erano state valutate. Quindi, questo lavoro vuole sottolineare l'importanza di considerare indici di salute e benessere in questo tipo di ricerche.

In conclusione, i dati raccolti durante questo studio mostrano la possibilità di ridurre l'impiego di soia nelle diete da ingrasso senza effetti negativi sulla qualità della carne di suini pesati destinati alle produzioni italiane DOP.

Bibliografia

- Almeida, F.N., Sulabo, R.C., Stein, H.H., 2014. Amino acid digestibility and concentration of digestible and metabolizable energy in a threonine biomass product fed to weanling pigs. *J Anim Sci* 92, 4540–4546. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6635>
- Apple, J.K., Boger, C.B., Brown, D.C., Maxwell, C.V., Friesen, K.G., Roberts, W.J., Johnson, Z.B., 2003. Effect of feather meal on live animal performance and carcass quality and composition of growing-finishing swine1. *Journal of Animal Science* 81, 172–181. <https://doi.org/10.2527/2003.811172x>
- Bava, L., Zucali, M., Sandrucci, A., Tamburini, A., 2017. Environmental impact of the typical heavy pig production in Italy. *Journal of Cleaner Production, Towards eco-efficient agriculture and food systems: selected papers addressing the global challenges for food systems, including those presented at the Conference “LCA for Feeding the planet and energy for life” (6-8 October 2015, Stresa & Milan Expo, Italy)* 140, 685–691. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.11.029>
- Carroue, B., and F. Gatel 1995. Peas: Utilization in animal feeding. UNIP – ITCP, Paris, France.
- Chiozza, M.V., Burachik, M., Miranda, P.V., 2020. Compositional analysis of soybean event IND-ØØ41Ø-5. *GM Crops & Food* 11, 154–163. <https://doi.org/10.1080/21645698.2020.1742040>
- De Carvalho Carellos, D., Lima, J.A. de F., Fialho, E.T., Freitas, R.T.F. de, Silva, H.O., Branco, P.A.C., Souza, Z.A. de, Vieira Neto, J., 2005. Evaluation of sunflower meal on growth and carcass traits of finishing pigs. *Ciênc. agrotec.* 29, 208–215. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000100026>
- de Quelen, F., Brossard, L., Wilfart, A., Dourmad, J.-Y., & Garcia-Launay, F. (2021). Eco-friendly feed formulation and on-farm feed production as ways to reduce the environmental impacts

- of pig production without consequences on animal performance. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.689012>
- Degola, L., Jonkus, D., 2018. The influence of dietary inclusion of peas, faba bean and lupin as a replacement for soybean meal on pig performance and carcass traits 236.6Kb. <https://doi.org/10.15159/AR.18.072>
 - Gomez Izquierdo, E., Gomez-roya, L., de Mercado de la Pena, E., Ciruelos, J.J., Rauw, W.M., 2020. Feed Efficiency Can Be Sustained in Pigs Fed with Locally Produced Narbon Vetch (*Vicia narbonensis* L.). *Feed Efficiency Can Be Sustained in Pigs Fed with Locally Produced Narbon Vetch (Vicia narbonensis L.)* 12, 3390. <https://doi.org/10.3390/su12103993>
 - González-Vega, J.C., Stein, H.H., 2012. Amino acid digestibility in canola, cottonseed, and sunflower products fed to finishing pigs. *Journal of Animal Science* 90, 4391–4400. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4631>
 - Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Hines, R.H., Kropf, D.H., Stoner, G.R., Thaler, R.C., Lewis, A.J., Schrick, B.R., 1993. Interrelationships between porcine somatotropin and dietary lysine on growth performance and carcass characteristics of finishing swine². *Journal of Animal Science* 71, 663–672. <https://doi.org/10.2527/1993.713663x>
 - Hanczakowska, E., Świątkiewicz, M., 2014. Legume Seeds and Rapeseed Press Cake as Replacers of Soybean Meal in Feed for Fattening Pigs. *Annals of Animal Science* 14, 921–934. <https://doi.org/10.2478/aoas-2014-0068>
 - Hur, S.J., Park, G.B., Joo, S.T., 2007. A Comparison of the Effects of Dietary Conjugated Linoleic Acid Contents, Cholesterol, Lipid Oxidation and Drip Loss in Pork Loin and Chicken Breast. *Journal of Muscle Foods* 18, 264–275. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2007.00082.x>
 - Kim, S.W., Less, J.F., Wang, L., Yan, T., Kiron, V., Kaushik, S.J., Lei, X.G., 2019. Meeting Global Feed Protein Demand: Challenge, Opportunity, and Strategy. *Annu Rev Anim Biosci* 7, 221–243. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-030117-014838>
 - Lannuzel, C., Smith, A., Mary, A.L., Della Pia, E.A., Kabel, M.A., de Vries, S., 2022. Improving fiber utilization from rapeseed and sunflower seed meals to substitute soybean meal in pig and chicken diets: A review. *Animal Feed Science and Technology* 285, 115213. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115213>
 - Masey O'Neill, H.V., Rademacher, M., Mueller-Harvey, I., Stringano, E., Kightley, S., Wiseman, J., 2012. Standardised ileal digestibility of crude protein and amino acids of UK-grown peas and faba beans by broilers. *Animal Feed Science and Technology* 175, 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.05.004>
 - Mordenti, A.L., Martelli, G., Brogna, N., Nannoni, E., Vignola, G., Zaghini, G., Sardi, L., 2012. Effects of a soybean-free diet supplied to Italian heavy pigs on fattening performance, and meat and dry-cured ham quality. *Italian Journal of Animal Science* 11, e80. <https://doi.org/10.4081/ijas.2012.e80>

- National Pork Producers Council. 1999. NPPC/MARC: Meat attitude perception tracker. National Pork Producers Council. Des Moines, Iowa.
- Petrova, I., Aasen, I.M., Rustad, T., Eikevik, T.M., 2015. Manufacture of dry-cured ham: a review. Part 1. Biochemical changes during the technological process. *Eur Food Res Technol* 241, 587–599. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2490-2>
- Povod, M., Mykhalko, O., Povochnikov, M., Gutyj, B., Koberniuk, V., Shuplyk, V., Ievstafieva, Y., Buchkovska, V., 2022. Efficiency of using high-protein sunflower meal instead of soybean meal in feeding of growing piglets 22.
- Povod, M., Zhmailov, V., Mykhalko, O., Korzh, O., Kodak, Tatiana, Getya, A.A., Kravchenko, O., Kodak, Tanya, 2020. Influence of pre-killing living weight on the quality of carcasses of hybrid pigs in the conditions of industrial pork production in Ukraine.
- Sirtori, F., Crovetto, A., Acciaioli, A., Bonelli, A., Pugliese, C., Bozzi, R., Campodoni, G., Franci, O., 2015. Effect of Replacing a Soy Diet with Vicia Faba and Pisum Sativum on Performance, Meat and Fat Traits of Cinta Senese Pigs. *Italian Journal of Animal Science* 14, 3659. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3659>
- Sirtori, F., Crovetto, A., Acciaioli, A., Pugliese, C., Bozzi, R., Campodoni, G., Franci, O., 2014. Effect of dietary protein level on carcass traits and meat properties of Cinta Senese pigs. *animal* 8, 1987–1995. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002006>
- Skoufos, I., 2014. Alternative protein sources to soybean meal in pig diets. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12, 655–666.
- Smith, L.A., Houdijk, J.G.M., Homer, D., Kyriazakis, I., 2013. Effects of dietary inclusion of pea and faba bean as a replacement for soybean meal on grower and finisher pig performance and carcass quality¹. *Journal of Animal Science* 91, 3733–3741. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6157>
- Sobotka, W., & Fiedorowicz-Szatkowska, E. (2021). The effect of replacing genetically modified soybean meal with 00-rape seed meal, faba bean and Yellow Lupine in grower-finisher diets on nutrient digestibility, nitrogen retention, selected blood biochemical parameters and fattening performance of Pigs. *Animals*, 11(4), 960. <https://doi.org/10.3390/ani11040960>
- Sońta, M., Łukasiewicz-Mierzejewska, M., Puppel, K., Rekiel, A., Więcek, J., Batorska, M., 2022. Influence of raw pea (P) or blue lupin seeds (L) on the level of selected bioactive substances in pork meat. *Annals of Animal Science* 22, 701–709. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0052>
- Stein, H.H., Everts, A.K.R., Sweeter, K.K., Peters, D.N., Maddock, R.J., Wulf, D.M., Pedersen, C., 2006. The influence of dietary field peas (*Pisum sativum* L.) on pig performance, carcass quality, and the palatability of pork. *J Anim Sci* 84, 3110–3117. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-744>

- Stødkilde, L., Mogensen, L., Bache, J.K., Ambye-Jensen, M., Vinther, J., Jensen, S.K., 2023. Local protein sources for growing-finishing pigs and their effects on pig performance, sensory quality and climate impact of the produced pork. *Livestock Science* 267, 105128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105128>
- Szabó, C., Jansman, A.J., Babinszky, L., Kanis, E., Verstegen, M.W., 2001. Effect of dietary protein source and lysine:DE ratio on growth performance, meat quality, and body composition of growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 79, 2857–2865. <https://doi.org/10.2527/2001.79112857x>
- Taelman, S.E., De Meester, S., Van Dijk, W., da Silva, V., Dewulf, J., 2015. Environmental sustainability analysis of a protein-rich livestock feed ingredient in The Netherlands: Microalgae production versus soybean import. *Resources, Conservation and Recycling* 101, 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.05.013>
- Vaclavkova, E., Danek, P. and Rozkot, M. 2011. Effect of sunflower in pig diet on fatty acid content in muscle and fat tissue of fattening pigs. *Res. Pig Breeding* 5(1):44-47.
- Vaclavkova, E., Danek, P., Rozkot, M., 2011. Effect of sunflower in pig diet on fatty acid content in muscle and fat tissue of fattening pigs. *Research in Pig Breeding (Czech Republic)* 5.
- White, G.A., Smith, L.A., Houdijk, J.G.M., Homer, D., Kyriazakis, I., Wiseman, J., 2015. Replacement of soya bean meal with peas and faba beans in growing/finishing pig diets: Effect on performance, carcass composition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 209, 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.005>

Tabelle e Figure

Tabella 1. Partite di animali inviate al macello, numero di animali per ciascuna partita, gruppo sperimentale, data della macellazione, durata in giorni della permanenza in sito III, e peso vivo medio degli animali registrato dal camion. In giallo sono evidenziate le due partite costituite dal campione di animali con marca auricolare.

N° partita	N° di animali	Gruppo sperimentale	Data della macellazione	Giorni di permanenza in sito III	Peso vivo medio (Kg)
1314000574	125	CO	01/08/2023	178	167.92
1314000674	125	TRT	02/08/2023	179	172.48
1324000374	130	CO	07/08/2023	184	170.69
1324000574	131	CO	07/08/2023	184	172.52
1324000874	114	CO	07/08/2023	184	177.19
1324000974	113	TRT	07/08/2023	184	176.11
1324001574	130	CO	09/08/2023	186	173.31
1324001674	130	CO	09/08/2023	186	170.23
1324001774	131	CO	09/08/2023	186	166.72
1324001874	113	TRT	09/08/2023	186	164.73
1334000374	130	TRT	11/08/2023	188	165.54
1334000474	130	TRT	11/08/2023	188	165.08
1334000574	128	TRT	11/08/2023	188	176.88
1334000674	132	TRT	11/08/2023	188	170.15

Tabella 2. Statistica e relative medie dell'LSI assegnato alle carcasse di tutte le partite macellate in funzione della dieta. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		Dieta
LSI coda	113.8	88.4	25.9	0.19
LSI arti	50.4	33.7	2.85	0.001
LSI busto dorsale	146	125	7.29	0.07
LSI busto craniale	67.2	55.3	3.98	0.04
LSI orecchie	40.6	51	4.7	0.12

Tabella 3. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sui parametri delle carcasse dei suini in prova. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		Dieta
N. carcasse	143	142	1.41	0.72
Peso Mac Freddo	891	871	-	-
Peso Carcassa CE	33.5	34.8	0.76	0.24
% carne magra	50.6	49.9	0.34	0.13
Grasso (mm)	65	65.9	0.38	0.12
Muscolo (mm)	96.1	97.6	0.85	0.23

Tabella 4. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sui difetti delle cosce. P-value significativo se < 0.05.

Difetti cosce	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		
Totale cosce escluse per difetti (%)	3.32	1.92	0.50	0.05
Difetti, %				
Cotti	0.00	0.00	0.00	1.00
Artriti	0.28	0.12	0.17	0.50
Magroni	0.00	0.00	0.00	1.00
Anchette rotte	0.23	0.34	0.20	0.70
Gambe rotte	0.28	0.16	0.18	0.66
Ascessi	0.62	0.43	0.20	0.48
Ematomi	1.57	0.59	0.29	0.02
Morsicati/graffiati	0.00	0.00	0.00	1.00
Grassinati	0.22	0.05	0.13	0.39
Corrente	0.00	0.05	0.00	0.47
Sforzati	0.00	0.00	0.00	1.00
Noci rotte	0.00	0.00	0.00	1.00
Arrossati	0.00	0.00	0.00	1.00
Venati	0.12	0.17	0.14	0.78

Tabella 5. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sui parametri delle carcasse, le caratteristiche tecnologiche e le analisi di qualità della carne di muscolo e lardo riferita al sottogruppo di 20 animali per trattamento in funzione della dieta e del sesso. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	Sesso		SEM	P-value	
	CO	TRT		F	M		Dieta	Sesso
Parametri registrati dal FOM								
Peso freddo (kg)	149	147	3.14	146	150	3.15	0.53	0.28
Peso CE (kg)	145	142	3	141	146	3	0.56	0.26
% carne magra	49.9	48.5	0.54	49.5	49	0.54	0.07	0.54
Grasso (mm)	34.7	37.7	1.16	35.6	36.8	1.17	0.07	0.47
Muscolo (mm)	66.5	63.7	1.33	65.2	64.9	1.14	0.1	0.86
Caratteristiche tecnologiche								
pH 45 min	5.79	5.66	0.05	5.74	5.71	0.05	0.07	0.61
Luminosità 45 min	42.66	43.65	1.01	43.65	42.66	1.01	0.17	0.29
a* 45 min	12.6	12.5	0.68	12.5	12.6	0.69	0.95	0.87
b* 45 min	2.92	3.16	1.09	2.96	3.12	1.09	0.52	0.66
pH 24 h	5.4	5.34	0.02	5.34	5.4	0.02	0.05	0.07
Luminosità 24 h	50.5	51.5	0.6	52.2	49.8	0.6	0.24	0.01
a* 24 h	8.09	8.52	0.25	8.11	8.5	0.25	0.22	0.27
b* 24 h	4.17	4.64	0.2	4.47	4.34	0.2	0.11	0.65
Drip loss (%)	2.26	3.08	1.1	2.36	2.95	1.1	0.03	0.1
Cooking loss (%)	27.7	28.6	0.42	28.6	27.8	0.42	0.13	0.2
Sforzo di taglio (kg)	1.44	1.38	0.06	1.42	1.4	0.06	0.51	0.82
MDA (mg MDA/kg di carne)	0.62	0.57	0.03	0.57	0.62	0.03	0.2	0.25
Qualità della carne (muscolo)								
Acidità (%)	1	0.81	1.1	1.03	0.79	1.1	0.12	0.06
Perossidi (meq-O ² /kg)	1.61	1.49	0.03	1.57	1.53	0.34	0.82	0.95
Iodio (gI ₂ /100g)	56	56.4	0.8	57.1	55.3	0.8	0.74	0.14
Qualità del grasso (lardo)								
Acidità (%)	0.54	0.56	1.07	0.57	0.53	1.07	0.57	0.43
Perossidi (meq-O ² /kg)	0.55	0.59	0.1	0.52	0.62	0.1	0.79	0.51
Iodio (gI ₂ /100g)	58.9	58.9	1.02	57.5	60.3	1.02	0.76	0.09

Tabella 6. Effetto di una dieta a basso contenuto di soia sulla composizione lipidica del muscolo *Longissimus lumborum*. P-value significativo se < 0.05.

Paramento	Dieta		SEM	Sesso		SEM	P-value	
	CO	TRT		F	M		Dieta	Sesso
Grasso totale (g/100g)	2.45	2.85	0.29	2.24	3.12	0.29	0.37	0.02
Acidi grassi esterificati, %								
Acido arachidico	0.77	0.72	0.07	0.67	0.84	0.08	0.50	0.10
Acido laurico	0.45	0.74	0.17	0.53	0.64	0.13	0.22	0.39
Acido linoleico	0.82	0.82	0.08	0.73	0.91	0.08	0.97	0.10
Acido linolenico	0.67	0.59	0.05	0.59	0.68	0.05	0.23	0.25
Acido miristico	1.44	1.64	0.10	1.54	1.53	0.10	0.17	0.92
Acido oleico	37.5	37.4	0.48	37.6	37.3	0.47	0.79	0.58
Acido palmitico	3.17	3.14	0.02	3.16	3.14	0.01	0.12	0.35
Acido palmitoleico	1.68	1.56	0.09	1.54	1.70	0.09	0.28	0.16
Acido stearico	14.0	14.4	0.40	14.3	14.1	0.41	0.48	0.74



Figura 1. Rappresentazione del metodo impiegato per il riconoscimento individuale delle carcasse dei suini contraddistinti da marca auricolare.

PSR 2014-2020 Regione Emilia Romagna FOCUS AREA 3°- Misura 16.2.1

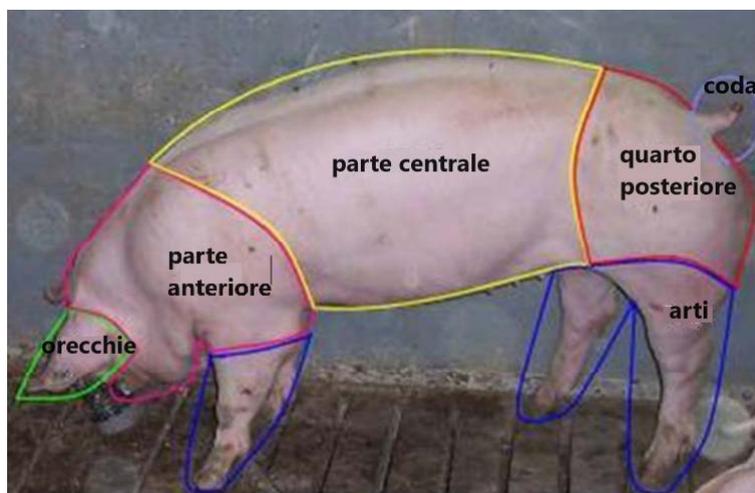


Figura 2. Regioni corporee da considerare nell'assegnazione del punteggio delle lesioni (Assessment protocol for pigs Welfare Quality®).