



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

## 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 5404635**

**DOMANDA DI PAGAMENTO 5818295**

Titolo progetto	MELioR DIET Migliorare l'Efficienza e la Resilienza della filiera suinicola del suino pesante con strategie dietetiche mirate a favorire la salute dei suini mantenendo gli standard qualitativi dei prodotti
Ragione sociale del beneficiario	GESCO SOCIETA' COOPERATIVA AGRICOLA IN BREVE GESCO S.C.A.

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18
Data inizio attività	01/09/2022
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	26/06/2024

Relazione relativa al periodo di attività dal	01/09/2022	26/06/2024
Data rilascio relazione		

Autore della relazione	<u>Valentini Thomas</u>		
telefono	_____	e-mail	
pec	<u>gescoconsorziosca@pec.amadori.it</u>		

**RESPONSABILE DEL PROGETTO**

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

PEC gescoconsorziosca@pec.amadori.it

Ente di appartenenza: GESCO SOCIETA' COOPERATIVA AGRICOLA IN BREVE GESCO S.C.A

**RESPONSABILE SCIENTIFICO DEL PROGETTO**

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

PEC distal.dipartimento@pec.unibo.it

Ente di appartenenza: Università degli studi di Bologna – Dipartimento DISTAL

## 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*

## 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
Cooperazione	Gestione e monitoraggio del progetto	set-22	set-22	mar-24	giu-24
	Rendicontazione tecnica, scientifica e finanziaria				
Azione 1	Animali e diete – Raccolta dati e campionamenti relativi alla riduzione della quota proteica nella dieta da svezzamento del suinetto	set-22	Nov-2022	Mar-23	Dic -22
Azione 2	Animali e diete – Raccolta dati e campionamenti relativi alla Strategia dietetica a basso tenore proteico nei suini in accrescimento e fino al macello	nov-22	Giu-23	Mar-23	Dic-23
Azione 3	Animali - Lesioni della carcassa e qualità della carne in suini alimentati con diete a basso tenore proteico nella fase di ingrasso	set-23	Dic-23	Feb-24	Apr-24
Azione 4	Animali e diete – Raccolta dati e campionamenti relativi alla Modulazione del microbiota intestinale per prevenire l’insorgenza della diarrea post svezzamento	gen-24	Gen-24	Mar-24	Apr-24
Divulgazione	Avvio progetto	mar-23	set-23	Mar-24	giu-24
	Conclusione progetto				

## 2 DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE

*Compilare una scheda per ciascuna azione*

### ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	COOPERAZIONE
--------	--------------

Descrizione delle attività	<p>Per quanto riguarda l'esercizio della Cooperazione, CICA ha collaborato con il beneficiario per le attività di animazione, funzionamento e gestione del progetto, mentre tutti i fornitori hanno partecipato alle attività di coordinamento e gestione delle azioni del Piano di Innovazione, ognuno con specifico riferimento alle azioni in cui è stato coinvolto.</p> <p>Nello specifico, la funzione svolta da CICA è stata quella di programmare le azioni e rendicontare l'attività scientifica attraverso la verifica dello stato di attuazione delle Azioni realizzate e il controllo sull'andamento degli indicatori, confrontando i risultati attesi e ottenuti.</p> <p>Al fine di stabilire tempi e modi dell'evoluzione dell'attività, sono state svolte diverse riunioni tra le varie unità operative del Piano.</p> <p>Per il continuo aggiornamento sui progressi del progetto, sono state utilizzate mailing list e piattaforme di scambio dei documenti</p> <p>Per le verifiche di avanzamento delle attività di progetto, il fornitore identificato CICA Bologna, con specifiche competenze in strategie organizzative, ha seguito la gestione dell'attività inerente i controlli riguardanti la corretta realizzazione del Piano di Innovazione nel suo complesso, in funzione del mantenimento dei requisiti di accesso del beneficiario, delle priorità assegnate, del controllo del pannello degli indicatori delle singole azioni per il raggiungimento degli obiettivi finali, anche tramite appositi strumenti di Project Management.</p> <p>Il fornitore CICA Bologna ha fornito supporto al controllo della corretta documentazione delle azioni, sia al fine della efficace comunicazione tra le parti, che della produzione della documentazione delle attività per come prevista nei termini indicati dalla RER, al fine di consentire la preparazione ed inoltro della domanda di liquidazione.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Indicatori:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- almeno due riunioni svolte al mese 10 di progetto: svolte 5 riunioni di coordinamento.</li> </ul> <p><b>Output dell'azione:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- elenchi della documentazione da produrre</li> <li>- verbali delle riunioni</li> <li>- documentazione atta alla rendicontazione scientifica ed economica del progetto</li> </ul> <p>Gli obiettivi sono stati raggiunti.</p>

## 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
	COORDINATORE	COOPERAZIONE	102,86 €	49	5.040,14 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	82	5.649,80 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	40	1.549,20 €
<b>TOTALE</b>					<b>12.239,14 €</b>

## COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
CICA		12.500,00 €	COOPERAZIONE	12.500,00 €

## ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	AZIONE 1 Riduzione della quota proteica nella dieta da svezzamento del suinetto
Descrizione delle attività	<p>L'Azione 1 "Riduzione della quota proteica nella dieta da svezzamento del suinetto", la cui realizzazione ha visto coinvolti GESCO e UNIBO, ha permesso di valutare nel dettaglio l'effetto di una sensibile riduzione della quota proteica della dieta sullo stato di salute, i comportamenti aggressivi, e le performance di crescita dei suinetti.</p> <p>In questa azione è stato testato il sensibile abbassamento della proteina greggia nella dieta per il suinetto nella fase di svezzamento.</p> <p>La formulazione delle diete impiegate è stata elaborata dalla funzione Ufficio Formulazione del Gruppo Gesco.</p> <p>Data la difficoltà di valutare in modo appropriato l'efficacia di strategie alimentari complesse sulla salute dei suinetti in coorti numerose, è stato condotto un test su media scala in cui si è prestata particolare attenzione allo stato di salute ed all'escrezione azotata dei suinetti.</p> <p>Spesso, nel suino, la riduzione della quota proteica della dieta al di sotto del 15% è associata ad una riduzione delle performance di crescita. Recenti evidenze scientifiche nel campo dell'alimentazione del suino, hanno evidenziato come in diete a basso tenore proteico, caratterizzate da un'elevata inclusione di aminoacidi liberi (AA) al fine di soddisfare i fabbisogni nutritivi degli animali, il calo delle performance di crescita, potrebbe essere dovuto all'asincronismo tra il picco di AA nel sangue (rapido), dovuto al rapido assorbimento degli AA non proteici ed il più lento picco di glucosio dato dalla digestione degli amidi presenti nella dieta. Infatti tale asincronia pare possa limitare la sintesi proteica a causa di una non completa utilizzazione degli AA presenti nel sangue. Partendo da questa ipotesi, si è deciso di modificare il protocollo di studio inserendo un terzo gruppo sperimentale che oltre ad una ridotta quota proteica incorporasse un'elevata concentrazione di amilopectina. La scelta dell'amilopectina, è giustificata dalla sua rapida digeribilità rispetto all'amilosio, per cui si è cercato migliorare il sincronismo tra AA e glucosio ematico. Il protocollo ha previsto comunque lo stesso numero di animali ed intensità di analisi, ma ha permesso di confutare l'ipotesi sopra indicata che per il gruppo GESCO ha rappresentato la possibilità di acquisire informazioni un concetto di formulazione innovativo.</p> <p>Il Protocollo di studio è stato approvato dal Comitato per il Benessere Animale dell'Università di Bologna Prot. n. 0007994 del 24/10/2022. La prova si è svolta nel periodo 02 novembre 2022 – 21 dicembre 2022.</p> <p>Nello specifico 96 suinetti svezzati sono stati trasferiti da una scrofaia afferente alla filiera GESCO presso la struttura zootecnica dell'Università di Bologna. Queste procedure di selezione e trasferimento dei suinetti sono state svolte dalla funzione Assicurazione Qualità del gruppo GESCO assieme ai ricercatori di UNIBO. I suini sono stati suddivisi in tre gruppi (10 repliche/dieta), bilanciati per peso vivo e nidiata di origine al fine di bilanciare l'effetto materno. I suinetti sono stati assegnati ad uno dei seguenti gruppi:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) gruppo di controllo (802), alimentato con una dieta standard utilizzata per lo svezzamento dei suinetti con contenuto in proteine grezze medi-alto (Fase 1: 18,0%; Fase 2: 16,6%; Fase 3: 16,7%);</li> <li>2) Gruppo bassa proteina (803), alimentato con una dieta standard utilizzata per lo svezzamento dei suinetti formulata secondo il concetto della bassa proteina grezza (Fase 1: 16,0%; Fase 2: 14,7%; Fase 3: 14,5%);</li> <li>3) Gruppo bassa proteina e alta amilopectina (804), alimentato nelle tre fasi con lo stesso tenore proteico della dieta 803 ma con l'aggiunta nella formulazione di una materia prima ad elevato contenuto di amilopectina.</li> </ol> <p>Al fine di limitare le differenze tra la dieta 803 e 804, come fonte di amilopectina è stato utilizzato il mais Waxy, una cultivar di mais, autorizzata per l'alimentazione animale che a fronte di un profilo amminoacidico molto simile al mais comune, presenta un amido formato per oltre il 99% da amilopectina. Tutte le diete sono state bilanciate in modo puntuale con un mix di aminoacidi di sintesi. Le diete sono state analizzate per il tenore in aminoacidi (AA) e bilanciate con AA di sintesi secondo i requisiti NRC per soddisfare i fabbisogni dei suinetti in questo periodo di vita.</p> <p>I suinetti sono stati pesati al d0 (svezzamento), d7, d14, d28, d42 e d49. Lo stato di salute e l'ingestione di alimento sono stati monitorati giornalmente, ad opera dei ricercatori di UNIBO, per calcolare gli indicatori di performance (IPG e ICA).</p> <p>Al giorno 10 (fase acuta di stress post-svezzamento) ed al giorno 42 da un sottocampione di 12 suinetti egualmente distribuiti nei tre gruppi (72 suini in totale), è stato prelevato un campione di feci per verificare l'effetto delle diete sul microbiota intestinale inclusa la presenza di patogeni tipici della fase di svezzamento, la concentrazione in acidi grassi volatili ed ammoniaca. Le operazioni di campionamento sono state svolte dai ricercatori di UNIBO con la collaborazione del personale della Assicurazione Qualità</p>

	di Gesco. Inoltre, sempre sulle feci, è stata valutata la concentrazione di un marcatore dell'infiammazione intestinale (calprotectina) quale indicatore diretto dello stato di salute intestinale dei suinetti.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Obiettivo:</b> vista la delicatezza della fase di svezzamento, questa azione è mirata a valutare nel dettaglio l'effetto di una sensibile riduzione della quota proteica della dieta sullo stato di salute, i comportamenti aggressivi, e le performance di crescita dei suinetti. L'Obiettivo è stato raggiunto</p> <p><b>Indicatori:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Esecuzione della prova di alimentazione in 96 suinetti svezzati.</li> <li>- Indicazioni sull'opportunità di ridurre la quota proteica della dieta da svezzamento.</li> <li>- Rispetto al gruppo di controllo, differenza modeste sulle performance produttive e/o riduzione del 10% del numero di interventi terapeutici per trattare patologie del tratto gastro-enterico del suinetto nel periodo di svezzamento. Nella prima settimana post svezzamento, che è la più critica per l'insorgenza di diarrea post-svezzamento, la dieta 804 (bassa proteina ed alta amilopectina) ha mostrato una riduzione significativa della presenza di diarrea rispetto alla dieta 803 (bassa proteina) mentre non ha mostrato differenze rispetto alla dieta 802 (controllo con proteina normale)</li> </ul> <p><b>Output dell'azione:</b> report tecnico-scientifico contenente raccomandazioni sull'opportunità di modificare la dieta di svezzamento riducendo sensibilmente il livello proteico. In allegato.</p> <p>Gli obiettivi sono stati raggiunti</p>

## PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	COORDINATORE	AZIONE 1	102,86 €	51	5.245,86 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	119	8.199,10 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	73	2.827,29 €
	TECNICO QUALITA'		41,61 €	121	5.034,81 €
<b>TOTALE</b>					<b>21.307,06 €</b>

## COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
UNIBO		36.273,00 €	AZIONE 1	36.273,00 €

## ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	AZIONE 2 Strategia dietetica a basso tenore proteico nei suini in accrescimento e fino al macello
Descrizione delle attività	<p>La prova ha coinvolto un sito 2 ed un sito 3 del gruppo GESCO. La Funzione assicurazione Qualità di Gesco ha avuto il compito di individuare gli allevamenti dai quali selezionare i suinetti, a "coda integra", oggetto di prova. Allo svezzamento (d0) (26 ±2 giorni di età), 1950 suinetti con peso medio 6.09 kg e provenienti da una scrofaia del gruppo GESCO sono stati accasati in un sito 2. Tutti i suinetti sono stati alimentati con il piano alimentare riferito alla dieta 804 adottata nell'Azione 1. Al d13, il personale Unibo, coadiuvato dal personale del gruppo GESCO, ha selezionato 398 animali, pesati individualmente e identificati tramite l'apposizione di una marca auricolare numerata.</p> <p>Al termine della fase di svezzamento circa 1.600 suini provenienti dal sito 2 sono stati accasati presso il sito 3. I soggetti, divisi in due gruppi, hanno ricevuto la dieta con livello standard di proteine gregge normalmente impiegato dal gruppo GESCO per questa fase di allevamento (CO); mentre la restante parte dei suini ha ricevuto una dieta con ridotto tenore in PG (circa due punti percentuali di differenza tra le diete) (TRT). La formulazione delle diete impiegate è stata operata dalla funzione Ufficio Formulazione del Gruppo Gesco e analizzate per il tenore in aminoacidi (AA) e bilanciate con AA di sintesi secondo i requisiti NRC per soddisfare i fabbisogni dei suini.</p> <p>Prima dello spostamento in sito 3, al d63, il personale Unibo ha effettuato i rilevamenti sullo stato di salute e benessere degli animali. Questi rilevamenti sono stati svolti mensilmente fino alla macellazione degli animali, quindi anche in sito 3. In particolare, 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®. Nelle stesse giornate dedicate ai rilevamenti sullo stato di salute e benessere degli animali sono stati rilevati i parametri ambientali nei box dove erano accasati gli animali con marca auricolare. In particolare, i dati raccolti sono stati i seguenti: intensità della luce, anidride carbonica (CO2), ammoniaca (NH3) e acido solfidrico (H2S). Il peso vivo degli animali con marca auricolare è stato registrato al d13 in occasione dell'accasamento in sito 2, poi di nuovo al d70 (accasamento in sito 3) e al d106, appena prima del passaggio dalla dieta di Fase 1 alla dieta di Fase 2. Quindi l'ultimo rilevamento del peso è avvenuto prima delle macellazioni (d231). Per tutti gli altri animali, il peso dei oggetti di ogni gruppo è stato rilevato all'accasamento ed all'uscita dal sito 3. Tra i suini identificati con marca auricolare numerata è stato creato un ulteriore sottogruppo di trentadue soggetti (16 suini/trattamento) bilanciato per sesso da cui nel d81, nel d106 e nel d231 sono stati prelevati campioni di feci per l'analisi del microbiota e per misurare il contenuto di NH3 e marcatori dello stato di salute dei suini</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Obiettivo:</b> valutare l'effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico sullo stato di salute, i comportamenti aggressivi, l'emissione di GHG ed ammoniaca e la qualità della carne del suino pesante. L'obiettivo è stato raggiunto</p> <p><b>Indicatori:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Esecuzione della prova di alimentazione in circa 2000 suinetti svezzati e circa 1600 suini all'ingrasso;</li> <li>- Nella fase di ingrasso, rispetto al gruppo di controllo, differenza modeste sulle performance produttive e/o riduzione del 10% del numero di interventi terapeutici per trattare patologie del tratto gastro-enterico e contestuale riduzione dell'escrezione di GHG e ammoniaca; Le performance di crescita sono rimaste pressochè identiche tra i due gruppi a dimostrazione che è possibile ridurre al quota proteica nella dieta per suini all'ingrasso. Nel gruppo TRT in diversi punti di rilevamento, si sono osservate riduzioni di CO2, NH3 e H2S. Lo stato di salute degli animali è stato buono per tutta la durata della prova questo non ha permesso di apprezzare differenze nei trattamenti terapeutici.</li> <li>- riduzione del 10% delle lesioni alla coda nel gruppo a basso tenore proteico: i dati</li> </ul>

non hanno evidenziato differenze significative per le lesioni a coda ed orecchie dei suini nei due gruppi in prova. Questo può essere considerato un fattore positivo visto che le diete a basso tenore proteico, se non ben bilanciate in AA sono una possibile causa di aggressività;

- Profilo microbico intestinale privo di rischi per la salute degli animali:.

**Output dell'azione:** redazione report tecnico-scientifico contenente l'indicazione sull'opportunità di adottare un piano di alimentazione a basso tenore proteico specialmente nella fase di ingrasso del suino pesante, riducendo l'impatto ambientale del ciclo produttivo in termini di GHG e i comportamenti aggressivi. In allegato.

Gli obiettivi sono stati raggiunti.

## PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	COORDINATORE	AZIONE 2	102,86 €	25	2.571,50 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	68	4.685,20 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	71	2.749,83 €
	TECNICO QUALITA'		41,61 €	75	3.120,75 €
	FUNZIONE MARKETING		36,83 €	21	773,43 €
<b>TOTALE</b>					<b>13.900,71 €</b>

## COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
UNIBO		34.318,00 €	AZIONE 2	34.318,00 €

## ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	AZIONE 3: Lesioni della carcassa e qualità della carne in suini alimentati con diete a basso tenore proteico nella fase di ingrasso
Descrizione delle attività	Al termine della fase di ingrasso (circa 170 kg di peso vivo) dell'Azione 2, i suini sono stati trasportati al macello. Su tutte le carcasse sono state verificate le lesioni corporee e la prevalenza di ascessi. I dati relativi al peso della carcassa, la classificazione SEUROP ed i dati rilevati al FOM sono stati raccolti. In merito alla qualità della carne, sono state campionate 20 spalle per ogni gruppo (CO e TRT). Le operazioni di campionamento sono state svolte dai ricercatori di UNIBO con la collaborazione del personale della Assicurazione Qualità di Gesco. Su ciascun campione, sono state effettuate le analisi per valutare la composizione chimica centesimale (umidità, proteine grezze, lipidi totali e ceneri) e le caratteristiche qualitative (pH ultimo, colore, perdite di liquido per sgocciolamento, perdite di cottura, sforzo di taglio e suscettibilità all'ossidazione dei lipidi) al fine di evidenziare eventuali effetti del piano alimentare a ridotto tenore proteico sulle caratteristiche nutrizionali e l'attitudine all'impiego nei prodotti preparati GESCO. Una quota dei tagli di "spalla" e "pancia" derivanti da entrambi i gruppi di animali oggetto di prova, sono stati acquistati da Gesco ed impiegati nei prodotti elaborati a marchio (spiedini, polpette e salsicce). Parallelamente all'esecuzione della prova, la Funzione Marketing ha condotto alcuni sondaggi di gradimento nei confronti dei clienti Gesco e del consumatore finale per indagarne la sensibilità e l'eventuale propensione all'acquisto di prodotti elaborati e riportanti in etichetta dichiarazioni di impiego di carni derivanti da animali allevati con elevati

	<p>standard di benessere ("a coda integra"), alimentati con mangimi a ridotto impatto ambientale (ridotto titolo proteico e conseguente minore escrezione azotata) e non sottoposti, durante il ciclo produttivo (o parte di esso) alla somministrazione di antibiotici (prevenzione della "antibiotico resistenza").</p> <p>Inoltre, è stato organizzato un "Test sensoriale comparativo" interno all'Azienda dove questi prodotti hanno riscontrato un "maggiore valore aggiunto" rispetto a quelli di linea standard. Inoltre per uno dei due prodotti testati, è stato riscontrato anche un maggior gradimento a livello sensoriale.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Obiettivo:</b> Valutare l'effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico sulle lesioni, le caratteristiche e la qualità della carne del suino pesante</p> <p><b>Indicatori</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- riduzione del 10% della severità delle lesioni alla coda nel gruppo a basso tenore proteico; Non sono state riscontrate differenze tra i gruppi, questo era prevedibile in quanto non vi erano differenze nemmeno nella fase di allevamento. Come noto dalla letteratura scientifica, le lesioni alla coda sono di origine multifattoriale. Nel caso di questa prova, la dieta non ha giocato un ruolo rilevante nel modificare le interazioni tra i soggetti.</li> <li>- Caratteristiche organolettiche e tecnologiche della carne in linea con gli standard commerciali della filiera GECO</li> </ul> <p><b>Output dell'azione:</b> Sarà redatto un report tecnico-scientifico contenente l'effetto della riduzione della quota proteica sulle caratteristiche della carcassa e della carne di suino pesante. Vedi allegato.</p> <p>Gli obiettivi sono stati raggiunti.</p>

## PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	COORDINATORE	AZIONE 3	102,86 €	12	1.234,32 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	42	2.893,80 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	101	3.911,73 €
	TECNICO QUALITA'		41,61 €	40	1.664,40 €
	FUNZIONE MARKETING		36,83 €	42	1.546,86 €
<b>TOTALE</b>					<b>11.251,11 €</b>

## COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
UNIBO		26.583,00 €	AZIONE 3	26.583,00 €

## ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	AZIONE 4 Modulazione del microbiota intestinale per prevenire l'insorgenza della diarrea post svezzamento
--------	---

Descrizione delle attività	<p>In questa azione è stata testata l'inclusione di un additivo di nuova autorizzazione nella dieta per il suinetto nella fase di svezzamento. Data la difficoltà di valutare in modo appropriato l'efficacia di strategie alimentari complesse sulla salute dei suinetti in coorti numerose, in questa azione è stato condotto un test su media scala in cui si è prestata particolare attenzione allo stato di salute ed al benessere dei suinetti. 96 suinetti svezzati a 26±2 giorni di vita sono stati prelevati da una scrofaia afferente alla filiera GESCO, così da valutare gli effetti dei fattori testati sulla genetica impiegata dal gruppo, e trasferiti presso lo stabulario dell'università di Bologna. Queste procedure di selezione e trasferimento dei suinetti sono state svolte dalla funzione Assicurazione Qualità del Gruppo Gesco assieme ai ricercatori di UNIBO. I suini sono stati suddivisi in due gruppi (16 repliche/dieta) bilanciati per peso vivo e nidata di origine al fine di bilanciare l'effetto materno ed assegnati ad uno dei seguenti gruppi: (1) Controllo positivo (CO), alimentato con la dieta normalmente impegnata nella filiera GESCO; (2) come il gruppo (1) ma integrata con un additivo ad azione modulatrice sulla salute intestinale (TRT). La formulazione delle diete impiegate è stata operata dalla funzione Ufficio Formulazione del Gruppo Gesco.</p> <p>I suinetti sono stati pesati al d0 (svezzamento), d7, d14, d21, d28, d35 e d44, lo stato di salute e l'ingestione di alimento sono stati monitorati giornalmente per calcolare gli indicatori di performance (IPG e ICA). Al giorno 9 (fase acuta di stress post-svezzamento) ed al giorno 28 (fase di recupero - fine prova) da un soggetto/replica (64 soggetti in totale), è stato prelevato un campione di feci per verificare l'effetto delle diete sul microbiota intestinale e sulla presenza di patogeni tipici della fase di svezzamento, la concentrazione in acidi grassi volatili ed ammoniaca. Inoltre, sempre sulle feci, è stata valutata la concentrazione di un marcatore dell'infiammazione intestinale (Calprotectina).</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Obiettivo:</b> Valutare l'effetto di un nuovo additivo per mangimi sulla salute e le performance di crescita di suinetti allo svezzamento.</p> <p><b>Indicatori:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Esecuzione della prova di alimentazione in 96 suinetti svezzati.</li> <li>- Rispetto al gruppo di controllo, riduzione del 10% dei casi di diarrea nel periodo di svezzamento. Durante la prova non si hanno avuti casi di diarrea da Escherichia coli, ma bensì casi di Actinobacillus pleuropneumoniae. La dieta TRT ha ridotto in modo significativo la morbidità rispetto al gruppo di controllo.</li> <li>- riduzione degli indicatori fecali microbici negativi o di infiammazione: non è stato evidenziato un effetto di riduzione dei marcatori fecali d'infiammazione nei soggetti del gruppo TRT. Questo può essere dovuto al tipo di patogeno riscontrato che porta a morte improvvisa dei soggetti colpiti per polmonite acuta, senza che vi sia il tempo per l'organismo di sviluppare segnali. Questo patogeno transloca attraverso la mucosa intestinale, per cui la ridotta mortalità nel gruppo TRT è un segno indiretto di una migliore integrità intestinale.</li> </ul> <p><b>Output dell'azione:</b> Report tecnico scientifico in merito all'efficacia dell'additivo utilizzato nel controllare la sindrome post-svezzamento.</p> <p>Gli obiettivi sono stati raggiunti</p>

## PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	COORDINATORE	AZIONE 4	102,86 €	34	3.497,24 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	30	2.067,00 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	60	2.323,80 €
	TECNICO QUALITA'		41,61 €	96	3.994,56 €
<b>TOTALE</b>					<b>11.882,60 €</b>

## COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
UNIBO		34.212,00 €	AZIONE 4	34.212,00 €

## ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	DIVULGAZIONE
Descrizione delle attività	<p>Il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL) dell'Alma Mater Studiorum – Università di Bologna nel corso delle proprie attività istituzionali svolge anche azioni di divulgazione mirate a diffondere le innovazioni ed i risultati conseguiti nelle attività di ricerca, al fine di garantire la disseminazione delle nuove conoscenze, in particolare sono stati divulgati tramite appositi report i risultati ottenuti.</p> <p>La Cooperativa GESCO, inoltre, ha trasferito i risultati a tutti i produttori (soccidari e soccidenti) aderenti alla filiera Amadori, con il preciso intento di diffondere presso la filiera l'adozione delle tecnologie innovative ottenute dal Piano. In particolare, sono stati organizzati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 meeting tecnici dedicato agli operatori ed i tecnici dei soggetti coinvolti nella Filiera Amadori.</li> </ul> <p>Nei primi mesi di attività, è stato organizzato un meeting volto ad introdurre il progetto di innovazione, gli obiettivi del Piano di Innovazione ed i problemi che mira ad affrontare (durata circa 2 ore).</p> <p>Al termine del progetto di innovazione, è stato organizzato un meeting tecnico in cui sono stati illustrati i risultati e le ricadute sulla filiera produttiva (durata circa 3 ore).</p> <p>Si è realizzato un convegno a carattere tecnico-divulgativo presso L'Aula Magna della Facoltà di Agraria presso l'Università di Bologna, dedicato alle figure professionali ed ai portatori di interesse della filiera del suino in cui è stata affrontata in modo più ampia la tematica oggetto del Progetto e le ricadute sulla filiera del suino pesante. Il convegno ha visto una buona partecipazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Presentazione dei risultati tramite comunicazione scientifica a convegno.</li> </ul> <p>E' stato pubblicato un articolo a carattere tecnico-divulgativo in un riviste del settore (333).</p> <p>I risultati delle prove svolte sono stati abbastanza coerenti con gli obiettivi di benessere animale, riduzione impatto ambientale e riduzione dell'uso di molecole antibiotiche perseguiti, la Funzione Marketing di Gesco ha quindi valutato la possibilità di andare in comunicazione su uno o più canali di informazione (TV, social ecc...), per promuovere, eventualmente, nuove linee di prodotto a marchio, recanti ulteriori requisiti di qualità rispetto a prodotti simili presenti sul mercato. Tale promozione però è ancora in fase di ulteriore valutazione e non è possibile prevedere quando sarà eventualmente attuata.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	<p><b>Indicatori:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pubblicazione dell'informazione obbligatoria nei termini stabiliti per il PSR</li> <li>- Partecipazione di almeno 15 persone al primo meeting tecnico - Partecipazione di almeno 40 persone ai due meeting tecnici</li> <li>- Partecipazione di almeno 50 persone al meeting divulgativo</li> <li>- Pubblicazione di almeno un articolo tecnico scientifico</li> </ul> <p><b>Output dell'azione:</b> Un articolo tecnico scientifici, 4 report divulgativi, tre meeting.</p> <p>Gli obiettivi sono stati raggiunti</p>

## PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
----------------	---------------------	-----------------------------	--------------	-----	--------------

	COORDINATORE	DIVULGAZIONE	102,86 €	31	3.188,66 €
	RESPONSABILE ORGANIZZATIVO		68,90 €	100	6.890,00 €
	TECNICO FORMULISTA		38,73 €	23	890,79 €
	TECNICO QUALITA'		41,61 €	25	1.040,25 €
	FUNZIONE MARKETING		36,83 €	3	110,49 €
<b>TOTALE</b>					<b>12.120,19 €</b>

## SPESE PER ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E DISSEMINAZIONE

Fornitore	Descrizione	Costo
CICA	Supporto alla realizzazione e verifica di contenuti. Divulgazione su sito internet e Social Media	5.000,00 €
UNIBO	Realizzazione di contenuti e presenza ad eventi di divulgazione. Redazione articolo divulgativo.	6.816,00 €
Totale:		<b>11.816,00 €</b>

## CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ

Lunghezza max 1 pagina

<b>Criticità tecnico scientifiche</b>	Non si sono riscontrate particolari criticità.
<b>Criticità gestionali</b> (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	<p>A causa delle misure di gestione sanitaria messe in atto per prevenire il diffondersi della PSA (Peste Suina Africana), che per diverse settimane hanno ridotto al minimo indispensabile lo spostamento di mezzi e persone da e per gli allevamenti suini del Gruppo e reso impossibile la presenza di personale "esterno" (come i ricercatori di UNIBO) in allevamento, è stato necessario posticipare alcune operazioni di campionamento previste e, conseguentemente, l'invio dei campioni e i relativi esiti analitici. La problematica ha colpito specialmente l'"Azione 2".</p> <p>Allo stesso tempo, a causa delle alluvioni che hanno colpito la regione Emilia Romagna, si è stati costretti a ritardare l'esecuzione di alcune prove previste presso l'allevamento Sperimentale UNIBO di Ozzano Emilia. Questo ha generato uno slittamento dell'esecuzione anche della prova "Azione 4" e di conseguenza, anche dei relativi campionamenti previsti e l'ottenimento degli esiti analitici per i quali serviranno diverse settimane.</p> <p>La proroga ottenuta, pari a 90gg, non ha consentito l'auspicata pubblicazione</p>

	dei risultati di progetto su riviste scientifiche.
<b>Criticità finanziarie</b>	Non si sono riscontrate criticità.

## **ALTRE INFORMAZIONI**

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

--

## 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

## 1 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

I risultati attesi sono stati ottenuti. Le attività specifiche di progetto si sono in generale svolte come descritte sopra. Per i dettagli vedi allegate relazioni specifiche.

Data 02/08/2024

*Firme del Responsabile scientifico*

.....

*Firma del legale rapp.te*

.....DOTT AMADORI DENIS (firmato digitalmente).....



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



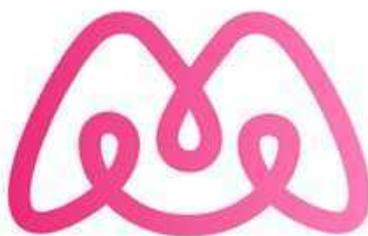
Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

## REPORT FINALE

### PSR GESCO



# MELIOR DIET

MIGLIORARE EFFICIENZA RESILIENZA DELLA FILIERA SUINICOLA

### PROGETTO MELIOR DIET

**Migliorare l'Efficienza e la Resilienza della filiera suinicola del suino pesante con strategie dietetiche mirate a favorire la salute dei suini mantenendo gli standard qualitativi dei prodotti.**



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

## **AZIONE 1**

# **VALUTAZIONE DELL'IMPIEGO DI DIETE A BASSO TENORE PROTEICO E PROFILO AMINOACIDICO BILANCIATO NELL'ALIMENTAZIONE DEL SUINETTO IN FASE DI SVEZZAMENTO**

**Prof. Paolo Trevisi**

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



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

## Introduzione

Negli ultimi anni, il tema della riduzione delle proteine grezze (PG) nelle diete dei suini svezzati ha suscitato un notevole interesse. Le diete a basso contenuto di PG offrono vantaggi significativi, come la riduzione dell'escrezione di azoto, che ha un impatto positivo sull'impronta ambientale della zootecnia (Pomar et al., 2021), e la diminuzione del rischio di patologie intestinali (Luise et al., 2021). Tuttavia, le diete a basso contenuto di PG pongono una sfida nel soddisfare le esigenze di aminoacidi (AA) dei suini. Questo è particolarmente critico per i suini svezzati, che subiscono significativi cambiamenti fisiologici durante questo periodo, comprese gli adattamenti nel loro sistema digestivo, l'efficienza immunitaria e i processi metabolici complessivi (Zheng et al., 2021). Soddisfare le loro esigenze nutrizionali durante questa fase è essenziale per supportare il loro sviluppo, robustezza e resilienza.

Negli ultimi dieci anni, la disponibilità di AA sintetici ha permesso formulazioni dietetiche più precise e una riduzione delle PG senza compromettere la salute e le prestazioni degli animali. Tuttavia, sostituire le proteine complesse con AA sintetici solleva preoccupazioni riguardo alla cinetica dell'assorbimento. Infatti, gli AA delle fonti proteiche complesse vengono rilasciati più lentamente rispetto agli AA sintetici, che vengono rapidamente assorbiti dall'intestino nel flusso sanguigno. Mentre la concentrazione di AA liberi nel sangue stimola la sintesi proteica, questo processo può essere ostacolato se il picco di AA non coincide con livelli adeguati di glucosio e un successivo picco di insulina, portando al catabolismo degli AA tramite deaminazione epatica (Eugenio et al., 2023). I suini generalmente derivano glucosio dalla digestione dell'amido, ma poiché la digestione dell'amido è più lenta rispetto all'assorbimento degli AA cristallini, questa asincronia può ridurre l'efficienza dell'utilizzo degli AA, particolarmente nelle diete a basso contenuto di PG (Eugenio et al., 2023). Per affrontare questo problema, ottimizzare la sincronia tra i picchi di glucosio e AA nel flusso sanguigno utilizzando amidi a digestione rapida potrebbe migliorare l'utilizzo degli AA e sostenere le prestazioni di crescita (Liu and Selle, 2017).

Gli amidi ricchi di amilopectina (AP) hanno dimostrato di aumentare i livelli di glucosio nel sangue più rapidamente rispetto a quelli a base di amilosio (AM) nei suini in crescita (Zhou et al., 2022). L'AP, essendo un polisaccaride ramificato, viene rapidamente degradato dall' $\alpha$ -amilasi nell'intestino tenue (Zhou et al., 2022). In pratica, materie prime ad alto contenuto di AP possono essere utilizzate per modulare il rapporto AM/AP e quindi il picco di glucosio nel sangue (Martens et al., 2018). In letteratura, l'uso della manioca come fonte di AP in diete a basso contenuto di PG ha modulato l'assorbimento intestinale del glucosio e la secrezione di ormoni intestinali, migliorando le prestazioni di crescita e l'efficienza dell'azoto nei suini in crescita (Zhou et al., 2021). Inoltre, Zhou et al. (2022) hanno riportato che la combinazione di amido convenzionale e amido waxy (con un rapporto AM/AP più basso) ha migliorato la deposizione proteica dell'intero corpo, le prestazioni di crescita e ha ridotto l'escrezione di azoto urinario in diete a basso contenuto di PG. Oltre alle prestazioni di crescita, ridurre il contenuto di PG nella dieta aumentando l'AP può influenzare l'ecosistema del microbiota intestinale, impattando vari aspetti della salute intestinale (Ren et al., 2021). Infatti, ridurre il livello di PG può ridurre la quantità di proteine non digerite che raggiungono il colon, potenzialmente diminuendo la produzione di composti tossici che influenzano negativamente la salute intestinale (Luise et al., 2021). Al contrario, un contenuto più elevato di AP può alterare la cinetica digestiva, influenzando la disponibilità di substrato per il microbiota intestinale a causa della sua maggiore degradazione enzimatica, che riduce la fermentazione rispetto all'amido ricco di AM, influenzando così le



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

concentrazioni di acidi grassi a catena corta (AGV) nell'intestino (Yang et al., 2021), cruciali per l'energia delle cellule epiteliali intestinali.

### Obiettivo

Lo scopo del presente studio è stato di comparare l'effetto di diete a basso tenore proteico che differivano per il rapporto amilosio/amilopectina verso una dieta con tenore proteico standard, sulle performance di crescita, la salute intestinale e l'escrezione di ammoniaca in suini nella fase di svezzamento.

### Materiali e metodi

Il Protocollo di studio è stato approvato dal Comitato per il Benessere Animale dell'Università di Bologna Prot. n. 0007994 del 24/10/2022. La prova si è svolta nel periodo 02 novembre 2022 – 21 dicembre 2022.

Allo svezzamento (25±2 giorni di vita), 96 suinetti sono stati trasferiti presso la struttura zootecnica dell'Università di Bologna. All'arrivo (d0), i suinetti sono stati collocati in 32 gabbie svezzamento (3 suinetti per gabbia) con pavimento grigliato (2 box rappresentavano suini di scorta in caso si fossero verificate perdite nelle prime settimane di allevamento). All'arrivo, il peso individuale dei suinetti è stato registrato e gli animali sono stati suddivisi in tre gruppi omogenei per peso e bilanciati per nidiata di origine. Ogni gruppo era costituito da 10 unità sperimentali (box). Ogni gruppo è stato assegnato a una delle tre diete sperimentali:

- 1) gruppo di controllo (802), alimentato con una dieta standard utilizzata per lo svezzamento dei suinetti con contenuto in proteine grezze medi-alto (Fase 1: 18,0%; Fase 2: 16,6%; Fase 3: 16,7%);
- 2) Gruppo bassa proteina (803), alimentato con una dieta standard utilizzata per lo svezzamento dei suinetti formulata secondo il concetto della bassa proteina grezza (Fase 1: 16,0%; Fase 2: 14,7%; Fase 3: 14,5%);
- 3) Gruppo bassa proteina e alta amilopectina (804), alimentato nelle tre fasi con lo stesso tenore proteico della dieta 803 ma con l'aggiunta nella formulazione di una materia prima ad elevato contenuto di amilopectina.

Al fine di limitare le differenze tra la dieta 803 e 804, come fonte di amilopectina è stato utilizzato il mais Waxy, una cultivar di mais, autorizzata per l'alimentazione animale che a fronte di un profilo amminoacidico molto simile al mais comune, presenta un amido formato per oltre il 99% da amilopectina.

Le diete sono state formulate in modo da essere isoaminoacidiche ed isoproteiche. La composizione delle diete e la loro relativa analisi chimica è riportata in **Tabella 1**

Una volta prodotte, per tutte le diete, è stato analizzato il profilo amminoacidico e le eventuali carenze sono state corrette sull'intero lotto di mangime impegnato nella prova. I suini sono stati stabulati in stanze climatizzate ad hanno avuto accesso continuo a cibo ed acqua, inoltre ogni box è stato attrezzato con materiale manipolabile (una catena ed una corda di cotone naturale).

### Rilievi e campionamenti

I suinetti sono stati pesati individualmente al d0 (giorno dello svezzamento) successivamente con cadenza settimanale (d7, d14, d21, d28, d35, d42, d49). Il consumo di alimento ed il residuo sono stati misurati settimanalmente al fine di calcolare l'indice di conversione alimentare (ICA). Lo stato di salute è stato

monitorato giornalmente e la consistenza fecale è stata valutata applicando una scala a 5 punti (1 feci dure – 5 feci acquose), da parte di personale esperto. Al giorno 10 ed al giorno 42 da un sotto campione di 12 suinetti egualmente distribuiti nei tre gruppi (72 suini in totale), è stato effettuato un tampone rettale per verificare l'effetto delle diete sul microbiota intestinale, la concentrazione in acidi grassi volatili ed ammoniaca.

#### Analisi AGV e Ammoniaca fecale

L'analisi degli AGV (acetato, propionato, isobutirato, butirato, valerato, isovalerato) e dell'acido lattico dei campioni di fecali è stata effettuata tramite HPLC secondo le seguenti procedure: 5 g di feci sono stati diluiti con 25 mL di soluzione acquosa di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N e omogeneizzati per 2 min con UltraTurrax (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germania). La miscela è stata centrifugata (5.000 × g per 15 min a 4°C) per separare la fase liquida dai residui solidi e successivamente microfiltrata (SLMV033RS, 0.45-µm Millex-HV, Merck-Millipore, Billerica, MA). Il campione ottenuto è stato iniettato direttamente nell'apparecchio HPLC utilizzando una colonna di esclusione ionica Aminex 85 HPX-87 H (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 220 nm. Le analisi sono state effettuate applicando un'eluzione isocratica (flux 0,6 mL/min) con una soluzione di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,008 N come fase mobile; il loop di iniezione era di 20 µL. Gli AGV individuali e l'acido lattico sono stati identificati utilizzando una soluzione di 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N (69775, 338826, 402907, B103500, 58360, 75054, 129542, rispettivamente; Sigma-Aldrich, Milano, Italia). La quantificazione è stata effettuata utilizzando una curva di calibrazione esterna basata sugli standard descritti sopra (Sandri et al. 2017).

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 tramite vortex, sono stati centrifugati per 10 minuti a 7000 rpm a 4 °C. L'ammoniaca fecale è stata determinata tramite un test colorimetrico enzimatico sul surnatante, seguendo il protocollo del produttore (Urea/BUN-Color; BioSystems S.A., Barcellona, Spagna), e i dati sono stati espressi in µmol/g di feci.

#### Analisi Calprotectina

La concentrazione di calprotectina (ng/ml) fecale è stata analizzata utilizzando il kit ELISA MBS033848 (Mybiosource, San Diego, CA, USA) seguendo le indicazioni del fornitore. Prima dell'analisi i campioni fecali sono stati diluiti 1:70 in PBS. I campioni sono stati analizzati in duplicato. L'assorbanza dei campioni è stata letta a 450 ng/ml utilizzando il lettore multipiastra Multiskan FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific). La concentrazione di calprotectina è stata calcolata utilizzando una curva parametrica a quattro punti. *Analisi Profilo Microbico*

L'estrazione del DNA batterico è stata eseguita su un totale di 72 campioni fecali utilizzando il FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Santa Ana, Ca, USA) seguendo le istruzioni del produttore. La concentrazione e la purezza del DNA (rapporti di assorbanza 260/280 e 260/230, rispettivamente) del DNA isolato sono state controllate mediante spettrofotometria NanoDrop (Fisher Scientific, 13 Schwerte, Germania). La regione V3-V4 del gene 16S rRNA (~ 460 bp) è stata amplificata; gli ampliconi sono stati prodotti utilizzando i primer universali Pro341F: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACCTACGGGNBGCASCAG-3' e Pro805R:

5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGTATCTAATCC-3' 58 utilizzando Platinum™ Taq DNA Polymerase High Fidelity (Termo Fisher Scientific, Italia) il sequenziamento è stato effettuato su piattaforma Illumina MiSeq 300 × 2 bp. La formazione delle library e il sequenziamento del gene 16S rRNA sono stati eseguiti con MiSeq® Reagent Kit V3-V4 sulla piattaforma MiSeq-Illumina®. L'analisi del microbiota è stata eseguita utilizzando la pipeline DADA2 e la tassonomia è stata assegnata utilizzando Silva Database (release 138) come riferimento (Quast et al., 2013).

### Analisi Statistiche

Per l'analisi statistica dei dati di peso e incremento ponderale giornaliero, AGV, NH3 e Calprotectina è stato utilizzato un modello lineare che considerava la dieta come fattore fisso e la nidiata di origine come fattore random. Per l'ingestione alimentare e l'indice di conversione alimentare, è stato utilizzato il box come unità sperimentale e i dati sono stati adattati con un modello lineare che comprendeva la dieta come fattore fisso. I confronti tra le diete sono stati testati con un test post-hoc (test Tukey). Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando le funzioni nei pacchetti "car" e "lsmeans" all'interno del software R v4.1.1.

### Analisi statistica microbiota

L'analisi statistica sull'alpha e beta diversità e sulle differenze tassonomiche è stata effettuata con R v4.1, utilizzando "phyloseq" v1.38 (McMurdie and Holmes, 2013), "vegan" v2.6 (Dixon, 2003) e "microbiomeutilities" v1.0. Le abbondanze dei campioni sono state normalizzate tramite rarefazione in riferimento al campione con il più basso numero di sequenze, per evitare distorsioni legate al diverso numero di sequenze prodotte per campione. Le differenze tra i gruppi per quanto riguarda gli indici di diversità alfa (diversità Chao1, Shannon e Simpson) sono state testate utilizzando il test di Wilcoxon.

Per la beta diversità è stata costruita una matrice di dissimilarità utilizzando come metrica la distanza euclidea tra le abbondanze dei campioni trasformati utilizzando la trasformazione "clr" ; i risultati sono stati plottati utilizzando un grafico NMDS (Non-metric multidimensional scaling). Le differenze sono state testate utilizzando un modello PERMANOVA (Adonis) con 9.999 permutazioni, includendo la dieta come fattore. Per l'analisi differenziale dei taxa è stato utilizzato l'algoritmo LEfSe a livello di genere (LDA score >2 e P.adj < 0.05) tra i gruppi sperimentali.

## Risultati

### Performance di crescita

I risultati delle performance di crescita individuali durante tutto il periodo sperimentale sono riportati nella **Tabella 2**. In generale, non si sono evidenziate differenze significative tra i gruppi al d7 e al d14. La dieta ha avuto un effetto significativo sul PV al d21 (P=0.01), d28, d35, d42 e d49 (P<0.001). In particolare, al d21 e al d28 il gruppo 802 ha avuto un PV maggiore rispetto al gruppo 803 (P=0.01 e P<0.01, rispettivamente) non ci sono state differenze significative per gli altri contrasti. Al d35, d42 e d49 il gruppo 802 aveva in media un PV maggiore rispetto al gruppo 803 (P<0.01 e P<0.0001) e 804 (P=0.01, P<0.01 e P<0.001), mentre non sono state evidenziate differenze significative tra il gruppo 803 e 804. Inoltre, la dieta ha significativamente influenzato l'IPG in tutti i periodi considerati (P<0.05) ad eccezione del periodo d0-d7 e dei periodi d0-d14 e d21-d28 dove è stata registrata una tendenza (P=0.06 e P=0.07, rispettivamente). In particolare, i suinetti del gruppo 802 hanno avuto un accrescimento maggiore rispetto a suinetti del gruppo 803 per i periodi: d7\_d14

( $P=0.03$ ), d14\_d21 ( $P<0.0001$ ), d14\_d28 ( $P<0.0001$ ), d28\_d35 ( $P<0.0001$ ), d35\_d42 ( $P<0.001$ ), d28\_d42 ( $P<0.0001$ ), d0\_d42 ( $P<0.0001$ ), d42\_d49 ( $P=0.003$ ) e d0\_d49 ( $P<0.0001$ ), mentre è stata registrata una tendenza per i periodi d0-d14 ( $P=0.06$ ) e d21-d28 ( $P=0.06$ ). Inoltre, i suinetti del gruppo 802 hanno avuto un accrescimento maggiore rispetto ai suinetti del gruppo 804 nei periodi: d14\_d21 ( $P<0.001$ ), d14\_d28 ( $P<0.01$ ), d28\_d35 ( $P<0.001$ ), d28\_d42 ( $P<0.001$ ), d0\_d42 ( $P<0.001$ ), d42\_d49 ( $P=0.006$ ) e d0\_d49 ( $P=0.0001$ ), non sono state evidenziate differenze significative per gli altri periodi considerati e tra il gruppo 803 e 804.

I risultati sull'incidenza della diarrea (Fecal index) durante tutto il periodo sperimentale sono riportati nella **Tabella 3**. Il fecal index è stato significativamente influenzato dalla dieta durante il periodo d0-d7 ( $P=0.02$ ), durante il quale il gruppo 804 ha avuto una minore incidenza di diarrea rispetto al gruppo 803 ( $P=0.035$ ). Non sono state registrate differenze significative per gli altri periodi considerati.

I risultati sull'ingestione alimentare (IA) e l'indice di conversione alimentare (ICA) durante tutto il periodo sperimentale sono riportati nella **Tabella 4**. L'IA non è mai stata significativamente influenzata dalla dieta mentre l'ICA è stato significativamente influenzato dalla dieta nei periodi d14\_d21 ( $P=0.003$ ), d21\_d28 ( $P=0.05$ ) e d14\_d28 ( $P=0.002$ ). In particolare, i suinetti del gruppo 802 hanno avuto un ICA migliore rispetto ai gruppi 803 e 804 nei periodi d14\_d21 ( $P=0.004$  e  $P=0.02$ ) e d14\_d28 ( $P=0.002$  e  $P=0.01$ ), mentre considerando il periodo d21\_d28, le differenze significative sono state evidenziate solo per il confronto fra i gruppi 802 e 803 ( $P=0.047$ ).

I risultati sull'incidenza delle lesioni su coda e orecchie misurate al d42 sono riportati in **Tabella 5**. Non sono state evidenziate differenze significative tra i gruppi.

#### Ammoniaca, acidi grassi volatili e Calprotectina nelle feci

I risultati sulla concentrazione fecale di  $\text{NH}_3$ , AGV (acido lattico, acetico, propionico, isobutirrico, butirrico, valerico e isovalerico) e Calprotectina, misurati al d10 e d42 sono riportati in **Tabella 5** e **Tabella 6**. La dieta non ha influenzato in modo significativo la concentrazione di  $\text{NH}_3$  e Calprotectina al d10 e d42 e la concentrazione degli AGV al d10.

#### Profilo Microbico

Il DNA batterico dai campioni fecali è stato estratto e amplificato con successo da un totale di 72 campioni. Complessivamente, la procedura di sequenziamento ha prodotto un totale di 3,304,583 sequenze, dopo il controllo di qualità sono state mantenute in media 34,423 sequenze per campione. Dopo l'analisi bioinformatica è stato prodotto un totale di 4.679 Amplicon Sequence Variants (ASVs). Le curve di rarefazione nella Figura 1 mostrano il numero di specie diverse osservate in funzione del numero di sequenze; la tendenza a un plateau indica che la procedura di sequenziamento è stata in grado di catturare tutta la variabilità presente nei campioni.

Tra i 4.679 ASV recuperati, sono stati identificati 19 Phyla, 92 Famiglie e 293 Generi. I phyla più abbondanti sono stati Firmicutes  $62.5\pm 8.4\%$ , Bacteroidota  $28.3\pm 7.0\%$  e Proteobacteria  $1.6\pm 3.6\%$ . Le famiglie più abbondanti erano Prevotellaceae  $19.5\pm 7.5\%$ , Lachnospiraceae  $14.5\pm 7.1\%$ , Lactobacillaceae  $9.5\pm 10.3\%$  e Clostridiaceae  $6.6\pm 6.7\%$ . I generi più rappresentati sono Prevotella  $11.2\pm 6.8\%$ , Lactobacillus  $9.45\pm 10.3\%$ , Clostridium\_sensu\_stricto\_1  $6.39\pm 6.6\%$  e Prevotellaceae\_NK3B31\_group  $4.7\pm 4.4\%$ .

La **Figura 3** mostra i valori degli indici di diversità Chao1, Shannon e InvSimpson per ciascun gruppo al d10 e d42. Complessivamente al d10, si può osservare come il gruppo 804 ha registrato valori di alpha diversità, misurata tramite l'indice di Shannon e InvSimpson, significativamente superiori rispetto al gruppo 802 (P=0.03) e 803 (P=0.04). Mentre per l'indice Chao1, il gruppo 804 ha avuto dei valori di alpha diversità, tendenzialmente maggiori rispetto al gruppo 802 (P=0.08). Al d42, il gruppo 804 ha registrato dei valori di Shannon tendenzialmente maggiori rispetto al gruppo 803 (P=0.089) e dei valori di InvSimpson significativamente maggiori rispetto al gruppo 803 (P=0.028). Non sono state evidenziate differenze significative per l'indice Chao1 e per gli altri confronti al d42.

Per la Beta diversità, sono stati generati due grafici NMDS, relativi ai due gironi di campionamento, utilizzando una matrice di distanza Unifrac **Figura 4**. I grafici mostrano una netta separazione tra i campioni in base al punto di campionamento (d10 o d42) e come i campioni delle diverse diete non formino dei cluster separati, sia al d10 che al d42, indicando che la composizione microbica generale tra le diete sperimentali non sia diversa. Questo è evidenziato anche dal test di Adonis, che ha mostrato come la composizione batterica non sia stata significativamente influenzata dalla dieta sia al d10 (R<sup>2</sup>=0.05, P=0.72) che al d42 (R<sup>2</sup>=0.06, P=0.30).

Per identificare i marcatori batterici specifici per ogni dieta l'analisi LEfSe è stata effettuata sia al d10 che al d42 (**Figura 5**). Al d10, il gruppo 803 è stato caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Lactobacillus* (LDA score= 5.15, P=0.02, *Clostridium\_sensu\_stricto\_1* (LDA score= 4.90, P adj=0.02) e Oscillospiraceae NK4A214\_group (LDA score= 4.87, P adj=0.004), mentre il gruppo 804 è stato caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Prevotella* (LDA score=5.04, P adj=0.003) e *Agathobacter* (LDA score=4.77, P adj=0.05). Al d42, il gruppo 802 è stato caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Anaerovibrio* (LDA score=3.77, P adj=0.04), il gruppo 803 da *Treponema* (LDA score=4.58, P adj=0.03) e il gruppo 804 da *Colidextribacter* (LDA score=3.16, P adj=0.01).

## Discussione

L'uso di una dieta con un basso rapporto AM/AP (~0,1) ha permesso di ridurre la PG del 2% (dal 18% al 16%) senza effetti negativi sulle prestazioni di crescita dei suini nelle prime due settimane post-svezzamento. Tuttavia, il rapporto AM/AP utilizzato in questo studio non è stato in grado di mantenere le prestazioni di crescita quando la stessa riduzione del 2% (dal 16,6% al 14,7%) di PG è stata applicata a partire dalla terza settimana post-svezzamento.

A conoscenza degli autori, questo è il primo studio che riporta i risultati del basso rapporto AM/AP in diete a basso contenuto di PG nei suini svezzati. Uno studio precedente di Zhou et al. (2022), in cui sono stati testati diversi rapporti AM/AP nei suini in crescita alimentati con una dieta a basso contenuto di PG (~13%), ha dimostrato che un rapporto AM/AP di ~0,2 ha fornito il rilascio ottimale di glucosio, aumentando la deposizione di proteine corporee e migliorando l'efficienza dell'azoto e le prestazioni di crescita. Tuttavia, i magroni sono generalmente alimentati con diete con un livello di PG dietetica inferiore e una quantità inferiore di AA cristallini è necessaria per bilanciare il livello nutrizionale rispetto alla dieta per suini svezzati. Infatti, la quantità di AA era ~2 g/100g, particolarmente inferiore rispetto alla quantità utilizzata

nel nostro studio (~13 g/100g; nella prima fase della dieta 804). Questo suggerisce che il picco di AA nel sangue può essere più pronunciato nei suini svezzati rispetto ai suini in crescita. Di conseguenza, i suini svezzati possono beneficiare di un rapporto AM/AP inferiore, permettendo una comparsa più rapida del glucosio nel sangue, ottimizzando così la sintesi proteica. A tal proposito, i dati ottenuti nei suini svezzati alimentati con una dieta con un rapporto AM/AP di ~0,03, rispetto a una dieta con un rapporto AM/AP di ~0,3, hanno mostrato un effetto positivo sull'IPG e sul ICA (Perez e Aumaitre, 1979). Tuttavia, rispetto al presente studio, questi autori hanno utilizzato un livello di PG dietetico relativamente alto (20%) e non sono stati forniti AA cristallini, il che limita la comparabilità tra gli studi. Infatti, nel presente studio, è stata adottata una forte restrizione della PG dietetica (~14.6%) compensata da un alto livello di AA cristallini. Questa soluzione è poco esplorata nei suini svezzati, ma può contribuire a spiegare l'impatto negativo delle diete a basso contenuto di PG (sia convenzionali che a basso rapporto AM/AP) sull'IPG e sul peso vivo. Questo risultato concorda con altri studi (Heo et al., 2008; Luo et al., 2015; Yu et al., 2019) in cui il livello di PG è stato ridotto al 15% o meno. Ad esempio, Yu et al. (2019) (20% vs 15%) e Luo et al. (2015) (20% vs 14%) hanno osservato una diminuzione dell'IPG nei suinetti svezzati nonostante le diete fossero adeguate a soddisfare i requisiti nutrizionali con AA essenziali. Questo suggerisce che AA non essenziali e/o altri nutrienti possono essere stati carenti quando la PG è stata ridotta al di sotto di una certa soglia. Infatti, è stato suggerito che la combinazione della riduzione della PG dietetica e del successivo aggiustamento per il profilo degli AA essenziali possa esacerbare la carenza di AA non essenziali (Boisen et al., 2000), che possono diventare limitanti per determinate funzioni biologiche, compromettendo la sintesi proteica.

Oltre all'effetto sulle prestazioni di crescita, un altro effetto della riduzione della PG dietetica può essere legato alla modifica dei substrati disponibili per la fermentazione batterica. Infatti, è plausibile che una riduzione della quantità di proteine o peptidi non digeriti che raggiungono l'intestino crasso possa ridurre il rischio di produzione di composti tossici come le poliammine e i composti fenolici e, di conseguenza, prevenire l'aumento della permeabilità della mucosa intestinale associata ai disturbi della salute intestinale nei suini svezzati (Gilbert et al., 2018). A tal proposito, la valutazione di endpoint ben mirati è di fondamentale importanza per la valutazione delle strategie dietetiche nei modelli animali. Come ipotizzato, i suini alimentati con la dieta a bassa PG e basso rapporto AM/AP avevano un indice di diarrea inferiore nella prima settimana post-svezzamento rispetto a una dieta convenzionale a basso contenuto di PG. Tuttavia, la stessa riduzione non è stata osservata confrontando la dieta a basso AM/AP e basso contenuto di PG con la dieta ad alto contenuto di PG, suggerendo che l'effetto osservato non può essere direttamente correlato a una diminuzione della fermentazione delle proteine dietetiche non digerite nell'intestino crasso, ma dovrebbe essere attribuito a uno squilibrio nutrizionale, come suggerito da Rocha et al. (2022). Questo è supportato dalla mancanza di effetto della dieta sull'ammoniaca fecale. Inoltre, nel presente studio non è stata osservata alcuna infiammazione acuta dell'intestino, infatti, la concentrazione fecale di calprotectina non differiva tra le diete. La calprotectina è un complesso proteico rilasciato dai neutrofili attivati, che sono cellule immunitarie coinvolte nella risposta infiammatoria. Durante l'infiammazione nel tratto gastrointestinale, i livelli di calprotectina aumentano nelle feci (Lallès e Fagerhol, 2005).

D'altro canto, la riduzione osservata della diarrea nello studio attuale potrebbe essere associata a una modulazione diretta del microbiota intestinale. Questo è supportato dal fatto che nella dieta a basso contenuto di PG e rapporto AM/AP la diversità batterica fecale è aumentata e l'abbondanza relativa di

*Prevotella* entro il giorno 10, senza influenzare la concentrazione di AGV. L'aumento di *Prevotella* concorda con i risultati di Zhou et al. (2022) in cui l'uso di una dieta con un basso rapporto AM/AP (~0,05) ha aumentato significativamente l'abbondanza di *Prevotella* nelle feci rispetto ad altri rapporti più elevati. *Prevotella* è un genere comunemente presente nell'intestino dei suini e svolge un ruolo significativo nella fisiologia dell'ospite. Questa relazione simbiotica con l'ospite è stata collegata a una maggiore efficienza alimentare, allo sviluppo del sistema immunitario e alla salute generale dei suini (Amat et al., 2020). Poiché l'AP viene rapidamente digerito nell'intestino tenue del suino, è meno fermentabile dai batteri intestinali. Tuttavia, i prodotti intermedi dell'idrolisi enzimatica dell'AP possono esercitare un effetto prebiotico, portando a un aumento sia dell'abbondanza che della diversità dei batteri (Zhang et al., 2020). Inoltre, la maggiore diversità microbica evidenziata nei suini alimentati con un basso rapporto AM/AP indica un ecosistema microbico intestinale più resiliente e stabile, come suggerito dalla presenza di un'ampia gamma di specie microbiche con diverse capacità metaboliche. Questa diversità garantisce che il microbiota intestinale possa adattarsi ai cambiamenti nella dieta, alle condizioni ambientali e alle sfide, mantenendo stabilità e funzionalità. Infine, una maggiore diversità microbica garantisce una maggiore ridondanza funzionale all'interno del microbiota intestinale. La ridondanza funzionale significa che più specie microbiche possiedono capacità funzionali simili; se una specie è compromessa o persa, altre specie con funzioni simili possono compensare e mantenere la funzionalità complessiva dell'ecosistema (Guevarra et al., 2019).

Inoltre, una riduzione eccessiva della PG nelle diete dei suini può ostacolare la produzione di AGV da parte del microbiota, poiché i batteri necessitano di un livello minimo di azoto per la fermentazione. Gli AGV sono essenziali per la salute intestinale, poiché il butirrato riduce la permeabilità dell'intestino causata dall'apoptosi a seguito del processo infiammatorio associato allo svezzamento (Zhong et al., 2019). Pertanto, mentre la riduzione della PG aiuta a prevenire la fermentazione delle proteine, è cruciale non ridurre la produzione di AGV che sono essenziali per la salute intestinale. Come osservato da Fan et al. (2017), una riduzione eccessiva delle proteine dietetiche (10% PG) può danneggiare la comunità batterica intestinale e ridurre le concentrazioni intestinali di AGV. Nel nostro studio, non sono stati osservati effetti negativi sulla produzione di AGV sebbene il livello di PG fosse significativamente ridotto.

In conclusione, mentre la riduzione dei livelli di PG dietetica ha avuto un effetto negativo sulle prestazioni di crescita, la riduzione del rapporto AM/AP ha ridotto la diarrea e aumentato la diversità batterica intestinale. I risultati presenti incoraggerebbero ulteriori studi sull'ottimizzazione del rapporto AM/AP nei suini svezzati alimentati con diete ricche di AA cristallini per bilanciare l'asincronia tra AA e glucosio nel sangue, migliorando potenzialmente sia la salute intestinale che le prestazioni complessive. Infine, potrebbe essere auspicabile considerare il livello di minerali e vitamine nelle diete a basso contenuto di PG per escludere effetti collaterali della restrizione proteica (ad esempio, basso contenuto proteico) nel coprire tutti i requisiti nutrizionali per i suini svezzati.

## 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>
- Boisen, S., Hvelplund, T., Weisbjerg, M.R., 2000. Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Livestock Production Science* 64, 239–251. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00146-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00146-3)
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Correa, F., Luise, D., Amatucci, L., Palumbo, F., Viridis, S., Negrini, C., Clavanzani, P., Vecchi, M., Mazzoni, M., Bosi, P., 2022. Effect of an Escherichia coli F4/F18 bivalent oral live vaccine on gut health and performance of healthy weaned pigs. *animal* 16, 100654.
- 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>
- Eugenio, F.A., van Milgen, J., Duperray, J., Sergheraert, R., Le Floc'h, N., 2023. Feeding pigs amino acids as protein-bound or in free form influences postprandial concentrations of amino acids, metabolites, and insulin. *animal* 17, 100684. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100684>
- Fan, P., Liu, P., Song, P., Chen, X., Ma, X., 2017. Moderate dietary protein restriction alters the composition of gut microbiota and improves ileal barrier function in adult pig model. *Scientific Reports* 7, 43412. <https://doi.org/10.1038/srep43412>
- Gilbert, M.S., Ijssennagger, N., Kies, A.K., van Mil, S.W.C., 2018. Protein fermentation in the gut; implications for intestinal dysfunction in humans, pigs, and poultry. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 315, G159–G170. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00319.2017>
- Guevarra, R.B., Lee, J.H., Lee, S.H., Seok, M.-J., Kim, D.W., Kang, B.N., Johnson, T.J., Isaacson, R.E., Kim, H.B., 2019. Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10, 1. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0308-3>
- Heo, J.-M., Kim, J.-C., Hansen, C.F., Mullan, B.P., Hampson, D.J., Pluske, J.R., 2008. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. *Archives of Animal Nutrition* 62, 343–358. <https://doi.org/10.1080/17450390802327811>
- Lallès, J.-P., Fagerhol, M.K., 2005. Faecal calprotectin: a non invasive marker of inflammation in pigs. *ISAH* 1, 405–408.
- Liu, S.Y., Selle, P.H., 2017. Starch and protein digestive dynamics in low-protein diets supplemented with crystalline amino acids. *Anim. Prod. Sci.* 57, 2250–2256. <https://doi.org/10.1071/AN17296>
- Luise, D., Chalvon-Demersay, T., Lambert, W., Bosi, P., Trevisi, P., 2021. Meta-analysis to evaluate the impact of the reduction of dietary crude protein on the gut health of post-weaning pigs. *Italian Journal of Animal Science* 20, 1386–1397. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1952911>
- Luo, Z., Li, C., Cheng, Y., Hang, S., Zhu, W., 2015. Effects of low dietary protein on the metabolites and microbial communities in the caecal digesta of piglets. *Archives of Animal Nutrition* 69, 212–226. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2015.1034521>

- Martens, B.M.J., Gerrits, W.J.J., Bruininx, E.M.A.M., Schols, H.A., 2018. Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 9, 91. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0303-8>
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE* 8, e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Perez, J.M., Aumaitre, A., 1979. Waxy versus regular maize: Energy value for growing pigs and utilization in piglet diets. *Animal Feed Science and Technology* 4, 109–115.
- Pomar, C., Andretta, I., Remus, A., 2021. Feeding Strategies to Reduce Nutrient Losses and Improve the Sustainability of Growing Pigs. *Frontiers in Veterinary Science* 8.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Ren, W., Yan, H., Yu, B., Walsh, M.C., Yu, J., Zheng, P., Huang, Z., Luo, J., Mao, X., He, J., 2021. Prevotella-rich enterotype may benefit gut health in finishing pigs fed diet with a high amylose-to-amylopectin ratio. *Animal Nutrition* 7, 400–411.
- Rocha, G.C., Duarte, M.E., Kim, S.W., 2022. Advances, Implications, and Limitations of Low-Crude-Protein Diets in Pig Production. *Animals* 12, 3478. <https://doi.org/10.3390/ani12243478>
- 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>
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W.S., Huttenhower, C., 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 12, R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>
- Takahashi, S., Tomita, J., Nishioka, K., Hisada, T., Nishijima, M., 2014. Development of a Prokaryotic Universal Primer for Simultaneous Analysis of Bacteria and Archaea Using Next-Generation Sequencing. *PLOS ONE* 9, e105592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105592>
- Yang, C., Wang, M., Tang, X., Yang, H., Li, F., Wang, Y., Li, J., Yin, Y., 2021. Effect of Dietary Amylose/Amylopectin Ratio on Intestinal Health and Cecal Microbes' Profiles of Weaned Pigs Undergoing Feed Transition or Challenged With *Escherichia coli* Lipopolysaccharide. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Yu, D., Zhu, W., Hang, S., 2019. Effects of low-protein diet on the intestinal morphology, digestive enzyme activity, blood urea nitrogen, and gut microbiota and metabolites in weaned pigs. *Archives of Animal Nutrition* 73, 287–305. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1614849>
- Zhang, X., Leemhuis, H., van der Maarel, M.J.E.C., 2020. Digestion kinetics of low, intermediate and highly branched maltodextrins produced from gelatinized starches with various microbial glycogen branching enzymes. *Carbohydrate Polymers* 247, 116729. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116729>
- Zheng, L., Duarte, M.E., Sevarolli Loftus, A., Kim, S.W., 2021. Intestinal Health of Pigs Upon Weaning: Challenges and Nutritional Intervention. *Front. Vet. Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628258>



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

- Zhong, X., Zhang, Z., Wang, S., Cao, L., Zhou, L., Sun, A., Zhong, Z., Nabben, M., 2019. Microbial-Driven Butyrate Regulates Jejunal Homeostasis in Piglets During the Weaning Stage. *Frontiers in Microbiology* 9.
- Zhou, J., Tu, J., Wang, L., Yang, L., Yang, G., Zhao, S., Zeng, X., Qiao, S., 2022. Free Amino Acid-Enriched Diets Containing Rapidly but Not Slowly Digested Carbohydrate Promote Amino Acid Absorption from Intestine and Net Fluxes across Skeletal Muscle of Pigs. *The Journal of Nutrition* 152, 2471–2482. <https://doi.org/10.1093/jn/nxac165>
- Zhou, X., Liu, Y., Zhang, L., Kong, X., Li, F., 2021. Serine-to-glycine ratios in low-protein diets regulate intramuscular fat by affecting lipid metabolism and myofiber type transition in the skeletal muscle of growing-finishing pigs. *Animal Nutrition* 7, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.08.011>

## Tabelle e Figure

**Tabella 1.** Piano alimentare codifica diete.

Item	0-14 gg (6-8 KG)			15-28 gg (8-15 KG)			29-42 gg (15-KG-FINE)		
	d0-d14			d14-d28			d28-d49		
	802	803	804	802	803	804	802	803	804
Ingredienti, %									
Farina di biscotti	18	18	18	17.4	20.4	19.8	-	-	-
Siero di latte in polvere	10.8	9.4	9.4	5.6	5.6	5.6	-	-	-
Mais Waxy	-	-	15	-	-	15	-	-	20
Orzo	10	10	10	10	10	10	15	15	15
Frumento	10	10	10	8	10	10	10	10	10
Mais in fiocchi	7	7	-	7	7	-	-	-	-
Crusca di frumento	6.4	6.1	6.1	3	6.9	6.5	-	-	-
Orzo fioccato	5	5	5	5	5	5	-	-	-
Farinaccio di frumento	5	5	5	5	7	7	12.5	13.9	13.9
Concentrato proteico di soia	3.9	-	-	7.7	-	-	5	-	-
Mais	3.2	8	-	13	7	-	36.9	41.2	21.2
Farina di girasole	3	3	3	3	3	3	-	-	-
Polvere d'uovo	3	3	3	-	-	-	-	-	-
Premix lisina	2.3	3	3	2.4	3.4	3.4	2.5	3.4	3.4
Premix (AAs [Thr, Val e Tre], Enzimi, S. cerevisiae)	2	2	2	2	2	2	1.9	1.9	1.9
Glutine di grano	2	1	1	1	1	1	-	-	-
Olio vegetale	1.8	1.5	1.5	1.4	1.8	1.8	0.6	-	-
Lignocellulosa	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	-	-	-
Premix Metionina	1.1	1.7	1.7	1.7	2.3	2.3	2.1	2.8	2.8
Farina di estrazione di soia	1	1	1	2	2	2	10.8	8.4	8.4
Fosfato bicalcico	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.7	0.7
Acido formico	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0	0	0
Premix di minerali e vitamine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4
Premix AGV/MCFA	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2
Preparazione di acido citrico, acido sorbico, timolo e vanillina	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cloruro di sodio	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.7	0.7	0.7
Colina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
Legante per micotossine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Fitasi	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Carbonato di calcio	0	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0.3

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

L-Triptofano 98%, g/100g	0.13	0.45	0.43	0.01	0.01	0.04	0.01	0.04	0.05
L-Valina 98%, g/100g	0.57	1.26	1.36	0.13	0.2	0.23	0.02	0.14	0.13
L-Treonina 98%, g/100g	0.55	1.15	1.31	0.03	0.1	0.15	0.02	0.1	0.11
Istidina HCL 72%, g/100g	0.27	0.52	0.52	0.02	0.07	0.06	0.01	0.07	0.07
Isoleucina 90%, g/100g	0.61	1.3	1.34	0.03	0.15	0.14	0.02	0.14	0.14
L-Leucina 98%, g/100g	0.96	2.07	2.17	0.07	0.27	0.23	0.04	0.21	0.19
L-Lisina 78.8%, g/100g	0.52	0.22	0.92	0.03	0.05	0.01	0.04	0.05	0.04
L-Metionina 99%, g/100g	0.12	0.3	0.34	0.08	0.04	0.04	0.03	0.05	0.02
Composizione Chimica analizzata, g/100g									
Amilosio	3.50	5.20	2.80	8.10	5.50	1.70	5.30	5.30	3.50
Amilopectina	27.9	31.4	31.4	26.6	33.2	36.5	35.2	36.5	38.9
Amilosio/ Amilopectina	0.13	0.17	0.09	0.3	0.17	0.05	0.15	0.15	0.09
Composizione Chimica analizzata, g/g%									
Proteina Grezza	18.0	16.0	16.0	16.6	14.7	14.7	16.7	14.5	14.5
Lipidi Grezzi	6.4	6.1	6.1	5.2	5.9	5.8	3.1	2.7	2.7
Fibra Grezza	4.4	4.4	4.4	4.4	4.6	4.6	3.2	3.2	3.2
Ceneri	4.7	4.5	4.5	4.7	4.6	4.6	5	4.7	4.7
Lisina	1.23	1.22	1.22	1.16	1.16	1.16	1.21	1.20	1.20
Lisina SID	1.14	1.14	1.14	1.08	1.08	1.08	1.13	1.12	1.12
Metionina	0.41	0.44	0.44	0.41	0.43	0.43	0.44	0.47	0.47
Metionina SID	0.38	0.41	0.41	0.39	0.41	0.41	0.42	0.45	0.45
Triptofano	0.30	0.30	0.30	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
Triptofano SID	0.27	0.28	0.28	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Istidina	0.40	0.39	0.39	0.38	0.37	0.37	0.41	0.40	0.40
Istidina SID	0.34	0.34	0.34	0.33	0.33	0.33	0.37	0.37	0.37
Isoleucina	0.71	0.70	0.69	0.63	0.62	0.62	0.62	0.61	0.61
Isoleucina SID	0.63	0.63	0.63	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
Leucina	1.31	1.29	1.29	1.20	1.19	1.19	1.25	1.23	1.23
Leucina SID	1.17	1.16	1.16	1.08	1.08	1.08	1.13	1.12	1.12
Cisteina	0.34	0.30	0.30	0.28	0.25	0.25	0.27	0.23	0.23
Cisteina SID	0.29	0.26	0.26	0.24	0.21	0.21	0.23	0.20	0.20
Valina	0.96	0.95	0.95	0.85	0.85	0.85	0.86	0.85	0.85
Valina SID	0.85	0.85	0.85	0.76	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78
Treonina	0.85	0.84	0.85	0.79	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78
Treonina SID	0.77	0.77	0.78	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
Na	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Cl	0.51	0.56	0.56	0.56	0.63	0.63	0.63	0.70	0.70
Energia Netta, Mcal/ g/g%	2.4	2.4	2.4	2.4	2.3	2.4	2.3	2.3	2.3

<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina

**Tabella 2.** Effetto delle diete testate sulle performance di crescita, sul peso vivo e l'incremento ponderale giornaliero di suini nella fase di svezzamento

Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
Peso vivo (g)								
d0	6941	6985	6914	298	0.95	0.98	0.99	0.95
d7	7653	7602	7638	253	0.98	0.98	1.00	0.99
d14	9738	9376	9595	309	0.48	0.45	0.88	0.75
d21	12798	11639	12056	374	<b>0.01</b>	<b>0.01</b>	0.14	0.54
d28	15991	14486	15076	395	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.01</b>	0.12	0.41
d35	19971	17808	18145	488	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.01</b>	<b>0.01</b>	0.84
d42	24477	21606	22252	520	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.01</b>	0.59
d49	31222	27413	28138	627	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.64
Incremento ponderale giornaliero (g)								
d0_d7	102.4	96.2	104.4	16.0	0.84	0.90	0.99	0.84
d7_d14	297.3	253.5	279.3	14.6	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	0.53	0.28
d0_d14	200.0	175.2	192.0	10.3	0.06	0.06	0.74	0.27
d14_d21	436.5	323.7	351.6	14.2	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.32
d21_d28	456.8	408.1	432.1	15.0	0.07	0.06	0.47	0.50
d14_d28	466.0	366.0	392.0	16.3	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.01</b>	0.26
d28_d35	568.0	474.0	437.0	31.7	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.01</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.48
d35_d42	644.2	542.4	585.6	22.9	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.01</b>	0.11	0.31
d28_d42	606.0	509.0	512.0	15.8	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.99
d0_d42	417.2	350.3	365.2	9.5	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.47
d42_d49	964.0	829.0	841.0	31.1	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.003</b>	<b>0.006</b>	0.95
d0_d49	495.0	419.0	433.0	10.7	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.0001</b>	0.57

802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina

**Tabella 3.** Effetto delle diete testate sull'indice della consistenza fecale dei suini nella fase di svezzamento

Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
Faecal Index (numero di giorni con faecal score >3, %) <sup>2</sup>								
d0-d7	0.3	0.53	0.13	0.3	<b>0.02</b>	0.35	0.37	<b>0.035</b>
d7-d14	0.03	0.23	0.17	0.06	0.07	0.16	0.30	0.83

<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina; <sup>2</sup>No Diarrea registrata in nessun soggetto dopo il d14

**Tabella 4.** Effetto delle diete testate sull'ingestione alimentare e l'efficienza alimentare di suini nella fase di svezzamento

Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802 <sup>1</sup>	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
Ingestione alimentare (g)								
d0_d7	158.9	175.8	179.3	11.6	0.43	0.57	0.44	0.98
d7_d14	379.7	377.3	420.0	20.6	0.28	1.00	0.36	0.32
d0_d14	269.3	276.5	299.7	11.4	0.16	0.90	0.16	0.34
d14_d21	644.1	600.8	631.4	16.4	0.18	0.17	0.85	0.40
d21_d28	721.4	718.8	751.5	25.8	0.61	1.00	0.69	0.65
d14_d28	682.7	659.8	691.5	15.6	0.35	0.56	0.92	0.34
d28_d35	953.3	878.7	895.8	29.3	0.19	0.19	0.36	0.91
d35_d42	1129.5	1081.9	1022.4	41.5	0.21	0.70	0.18	0.58
d28_d42	1041.4	980.3	959.1	31.5	0.18	0.37	0.17	0.88
d42_d49	1222.0	1226.0	1154.0	37.0	0.32	0.99	0.41	0.36
d0_d49	733	750	706	13.2	0.07	0.61	0.33	0.06
Indice di conversione								

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

d0_d7	1.81	2.17	2.13	0.39	0.77	0.79	0.83	1.00
d7_d14	1.36	1.52	1.54	0.13	0.56	0.66	0.59	0.99
d0_d14	1.42	1.62	1.57	0.12	0.50	0.49	0.67	0.96
d14_d21	1.47	1.86	1.80	0.08	<b>0.003</b>	<b>0.004</b>	<b>0.02</b>	0.85
d21_d28	1.57	1.81	1.74	0.07	<b>0.05</b>	<b>0.047</b>	0.19	0.75
d14_d28	1.53	1.84	1.78	0.06	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>	<b>0.01</b>	0.74
d28_d35	1.75	1.89	2.15	0.17	0.24	0.82	0.22	0.52
d35_d42	1.78	1.99	1.75	0.08	0.09	0.17	0.96	0.11
d28_d42	1.74	1.91	1.88	0.06	0.09	0.10	0.20	0.92
d42_d49	1.35	1.42	1.40	0.07	0.82	0.82	0.89	0.98
d0_d49	1.61	1.65	1.65	0.05	0.80	0.84	0.89	0.99

<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina

**Tabella 5.** Effetto delle diete testate sull'incidenza di lesioni ad orecchie e coda in suini al termine della fase di svezzamento

Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
Lesion score Index (d42 post-svezzamento)								
LSI orecchie	113.3	71.7	81.7	20.5	0.34	0.33	0.53	0.94
LSI coda	23.3	31.7	40	15.3	0.75	0.92	0.72	0.92

<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina

**Tabella 6.** Effetto delle diete testate sulla concentrazione di NH<sub>3</sub> e Calprotectina fecale al d10 e d42

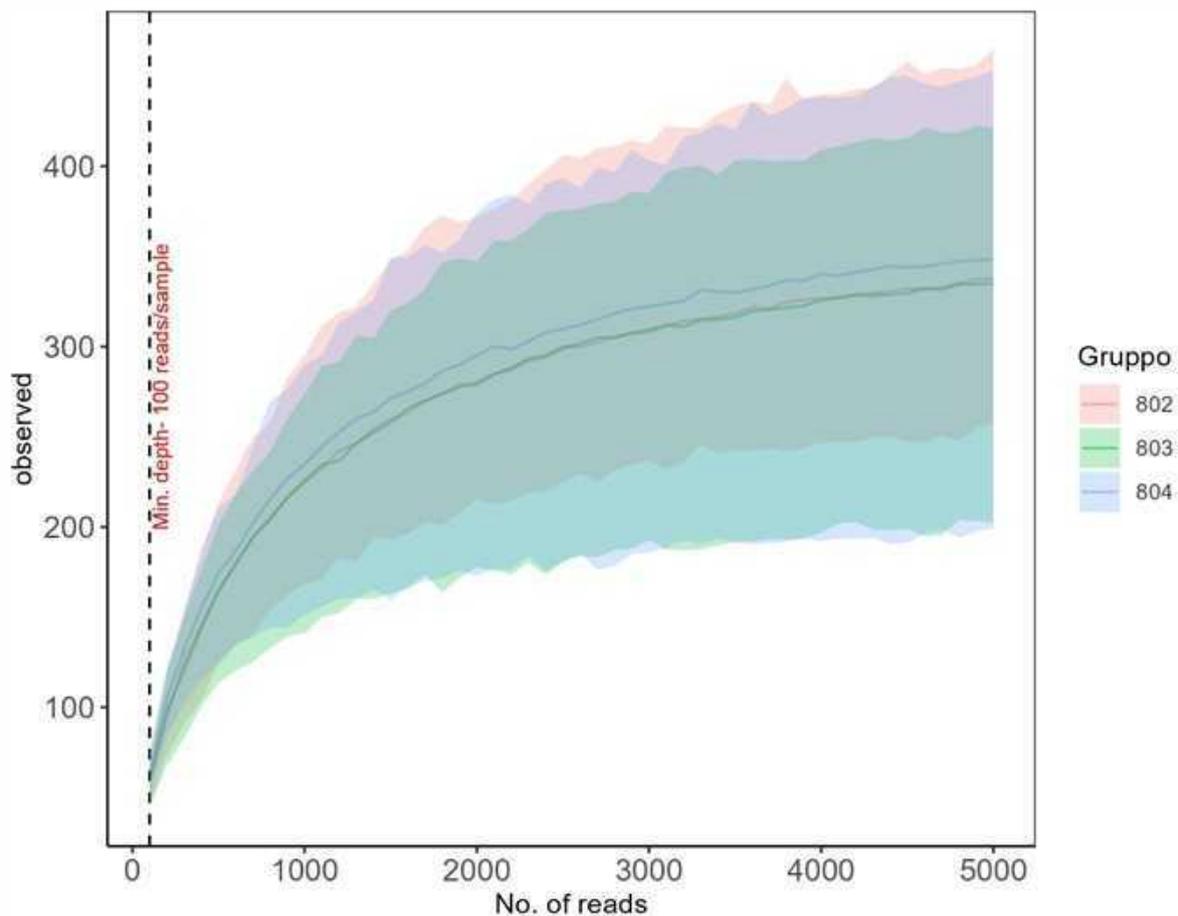
Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
NH <sub>3</sub> , µmol/g								
d10	30.6	32.8	30.8	3.47	0.87	0.89	0.99	0.91
d42	36.4	27.0	35.8	3.85	0.12	0.18	0.99	0.23
Calprotectina, mg/ml								
d10	5784	5845	5791	248	0.13	0.11	0.66	0.42
d42	5007	5139	5387	297	0.39	0.95	0.39	0.58

<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina

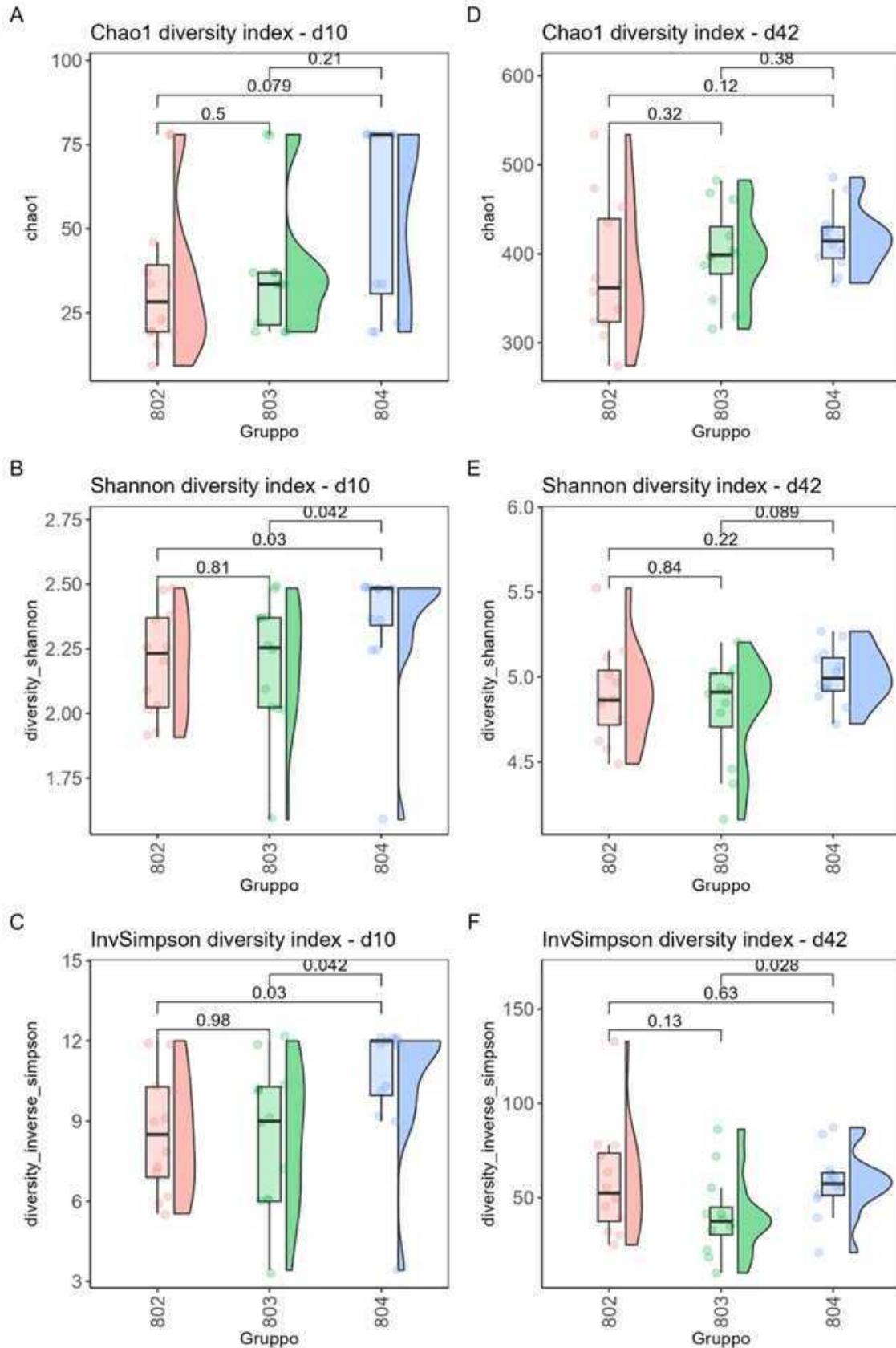
**Tabella 7.** Effetto delle diete testate sulla concentrazione fecale di acido lattico, acetico, propionico, isobutirrico, butirrico, valerico e isovalerico d10.

Parametro	Dieta <sup>1</sup>			SEM	p-value	Confronti		
	802 <sup>1</sup>	803	804			802 vs 803	802 vs 804	803 vs 804
Lattico (mmol/g)	0.016	0.014	0.016	0.003	0.87	0.89	1.00	0.89
Acetico (mmol/g)	0.012	0.011	0.011	0.002	0.97	0.99	0.97	0.99
Propionico (mmol/g)	0.011	0.008	0.011	0.002	0.55	0.61	1.00	0.61
Isobutirrico (mmol/g)	0.002	0.002	0.001	0.001	0.86	0.97	0.85	0.94
Butirrico (mmol/g)	0.004	0.003	0.004	0.001	0.80	0.82	1.00	0.85
Isovalerico (mmol/g)	0.004	0.004	0.003	0.001	0.32	1.00	0.41	0.37
Valerico (mmol/g)	0.001	0.003	0.001	0.001	0.12	0.14	0.98	0.20
Lattico (mg/g)	1.59	1.39	1.59	0.32	0.88	0.90	1.00	0.90
acetico (mg/g)	0.69	0.68	0.65	0.11	0.97	1.00	0.97	0.99
Propionico (mg/g)	0.82	0.58	0.83	0.18	0.55	0.61	1.00	0.60
Isobutirrico (mg/g)	0.16	0.15	0.13	0.05	0.85	0.97	0.84	0.93
Butirrico (mg/g)	0.36	0.27	0.36	0.09	0.73	0.77	1.00	0.78
Isovalerico (mg/g)	0.44	0.43	0.27	0.08	0.20	0.99	0.25	0.29
Valerico (mg/g)	0.07	0.35	0.12	0.10	0.10	0.12	0.95	0.21

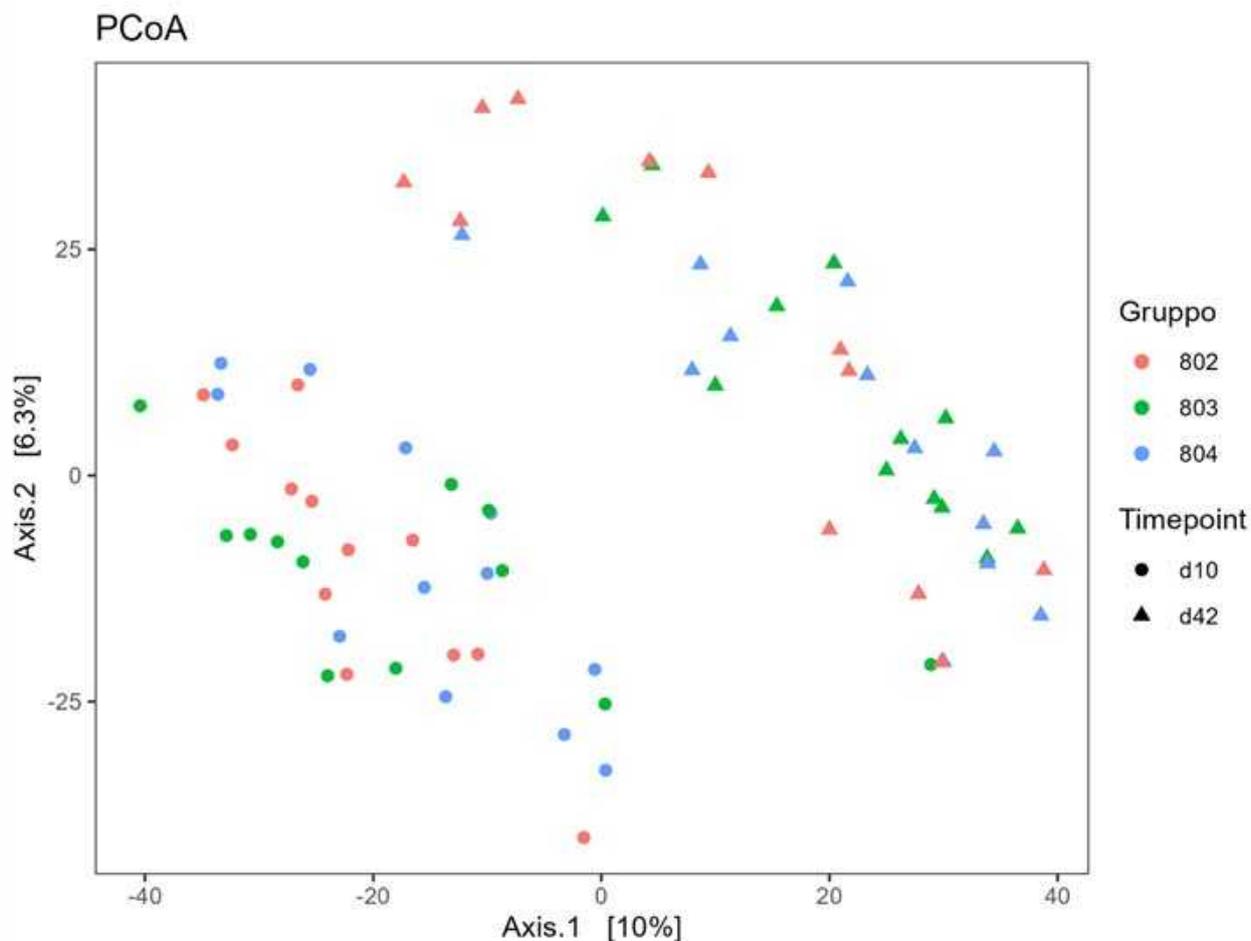
<sup>1</sup>802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina



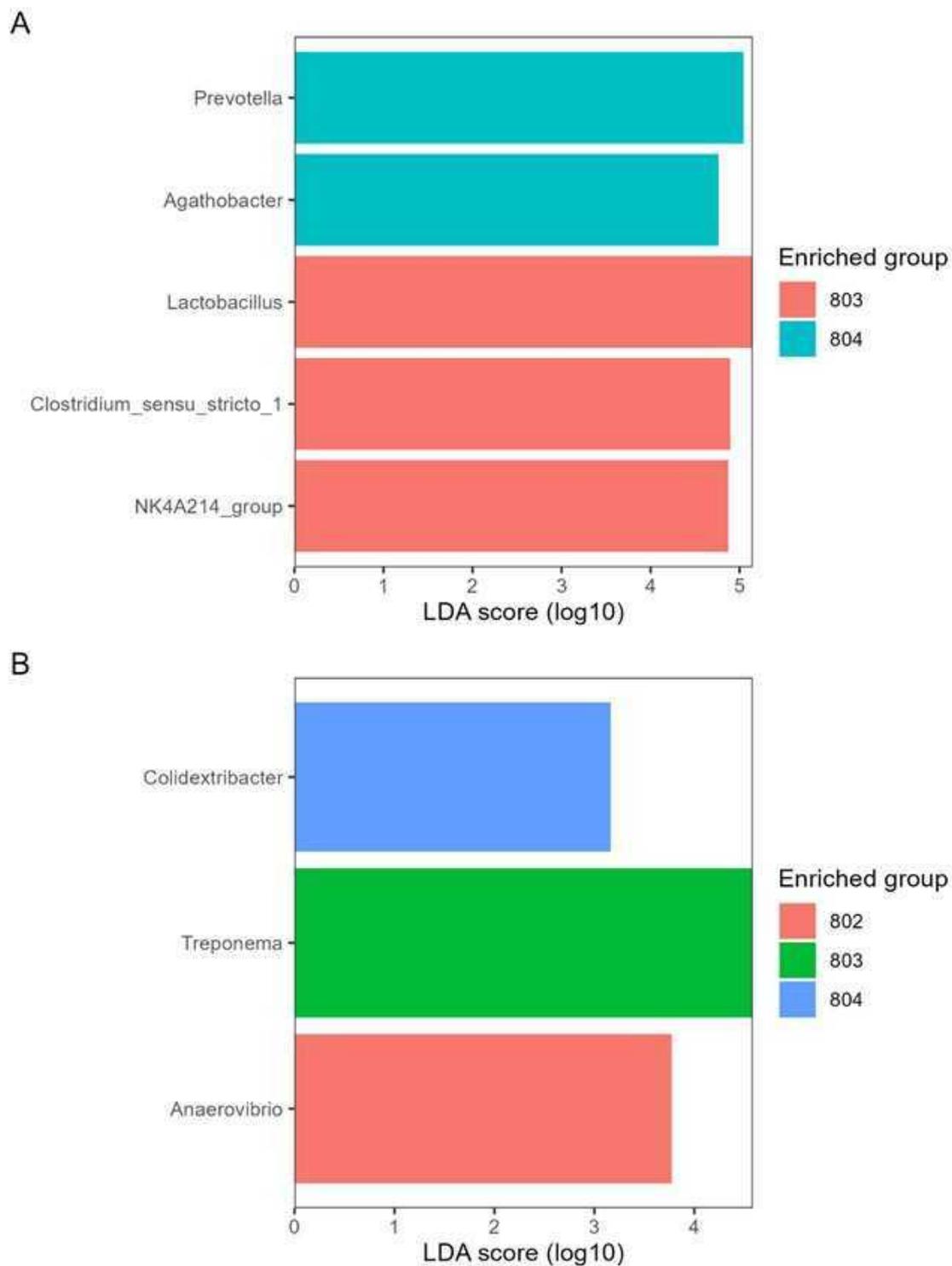
**Figura 1.** Curve di rarefazione del microbiota fecale. 802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina



**Figura 2.** Effetto delle diete testate sui valori di alpha diversità del microbiota fecale al d7 (A,B,C) e al d28 (D,E,F). 802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina



**Figura 3.** Effetto delle diete testate sulla beta diversità del microbiota fecale al d10 e al d42. 802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina



**Figura 4.** Analisi LEfSe al d7 (A) e al d28 (B). 802= gruppo di controllo, proteine grezze medio-alto, 803= Gruppo bassa proteina, 804= gruppo bassa proteina e alta amilopectina



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

## **AZIONE 2**

### **EFFETTO DELLA RIDUZIONE DELLA QUOTA PROTEICA IN UNA DIETA DA INGRASSO SULLE PERFORMANCE PRODUTTIVE**

**Prof. Paolo Trevisi**

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



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

## Introduzione

La crescita della popolazione e l'aumento del livello del PIL pro-capite comporterà un aumento del consumo annuale di carne da 41 kg pro capite nel 2005 a 69 kg pro capite nel 2050, il che implica un aumento dell'1,15% del consumo di carne all'anno a livello mondiale. Questa crescita del mercato influenzerà la domanda di materie prime proteiche per mangimi ed in particolare di farina di semi di soia (de Visser et al., 2014). Infatti, la produzione di soia è cresciuta in modo significativo, passando da 0.26 milioni a quasi 56 milioni di ettari coltivati in Sud America dal 1961 al 2014, spinta dalla domanda per la produzione di mangimi per animali (Voora et al., 2020). La farina di estrazione soia rappresenta la più importante fonte proteica vegetale impiegata nella formulazione di diete per suini, grazie al suo eccellente equilibrio in termini di amminoacidi (AA) essenziali, alla bassa concentrazione di fibre e alla sua economicità rispetto ai prodotti di origine animale (Shannon e Allee, 2010; Wang et al., 2011). La dipendenza del settore zootecnico europeo può essere espressa anche in funzione della quantità di farina di estrazione soia utilizzata per unità di carne prodotta: 232, 648 e 967 g/kg per le carni bovine, suine e avicole, rispettivamente (de Visser et al., 2014). Ad ogni modo, l'analisi condotta da Boerema et al., (2016) dimostra che l'importazione di soia in Europa ha effetti ecologici e socioeconomici deleteri, erodendo il capitale naturale e provocando perdite permanenti di importanti servizi ecosistemici. Gli autori hanno dimostrato che vi sono reali impatti sulle comunità locali (ad esempio, l'acqua potabile inquinata dai fertilizzanti) e sulle comunità globali/future (ad esempio, la diminuzione della regolazione del clima globale a causa della deforestazione). Bava et al. (2017) hanno condotto un'analisi LCA (Life Cycle Assessment) sul settore suinicolo italiano: potenziale di riscaldamento globale per la produzione di suino pesante era in media di  $4,25 \pm 1,03$  kg di CO<sub>2</sub> eq/kg di peso vivo. L'alimentazione degli animali rappresentava la voce produttiva maggiormente impattante, ed in genere risulta anche essere la voce più impattante sul bilancio aziendale. Inoltre, la composizione del mangime influenza la composizione del letame in termini di quantità di ammoniaca, fosforo e nitrati, che contribuiscono all'inquinamento di acqua, aria e terreni, insieme ai pesticidi e fertilizzanti utilizzati per le coltivazioni. Da queste precisazioni si evince l'importanza del piano alimentare ed in particolare il livello e la tipologia di proteine impiegate nelle diete degli animali da allevamento sull'impatto che le produzioni stesse hanno sull'ambiente. Di conseguenza, strategie alimentari volte a migliorare tali aspetti possono rappresentare una valida soluzione nella riduzione dell'impatto che la produzione del suino pesante ha sull'ambiente.

A tal proposito, Wang et al. (2019) hanno constatato che la riduzione della proteina grezza di 2 punti percentuali rispetto alla raccomandazione del NRC (1998) contestualmente alla supplementazione dei primi 4 AA limitanti comportano una diminuzione dell'IPG durante la fase di crescita e finissaggio. In particolare, hanno evidenziato che una dieta al 16% di proteina grezza in fase di accrescimento ed al 15% di proteina grezza in finissaggio hanno permesso di ottenere performance di crescita migliori rispetto a diete il cui livello di proteina era rispettivamente del 14% e del 13%. Tuttavia, il gruppo ricevente una dieta a basso contenuto proteico ha mostrato una crescita compensativa nella fase di finissaggio, con conseguente assenza di differenze significative per l'intero periodo di crescita.

Negli anni il continuo miglioramento del bilanciamento aminoacidico delle diete, grazie alla presenza sul mercato di aminoacidi di sintesi ha inoltre permesso di ridurre il contenuto proteico grezzo nelle diete suine portando ad una riduzione dell'N escreto con le feci. Eppure, la letteratura mostra che non sempre la



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

riduzione di PG nella dieta e la supplementazione con AA di sintesi si traduce in una riduzione dell'N escreto con le feci (Canh et al., 1998); questo potrebbe essere legato all'asincronia che caratterizza la disponibilità di AA ed energia dopo il pasto. Infatti, va considerato che in base alla diversa fonte di AA somministrati ne può variarne l'assorbimento, con possibili implicazioni sul metabolismo postprandiale. Si consideri che per la sintesi di proteine muscolari è necessario un apporto bilanciato di AA e sostanze ad alto rendimento energetico. Poiché l'amido è la principale fonte di glucosio nelle diete dei suini, l'aggiunta di amidi più rapidamente digeribili, caratterizzati da un rapporto più basso tra amilosio e amilopectina, può risolvere la discrepanza tra disponibilità di AAs sintetici e glucosio (Zhou et al., 2021). Una fonte di amido facilmente digeribile è la varietà di mais Waxy, il cui amido è composto pressoché completamente da amilopectina (Perez & Aumaitre, 1979).

La presenza di AA liberi o proteine idrolizzate può provocare un aumento del rilascio insulinico. Quindi, l'impiego di diete contenenti AA liberi e piccoli peptidi sembra correlarsi con una ridotta incidenza del metabolismo di primo passaggio degli AA nell'intestino e nel fegato, in confronto all'assunzione di proteine complesse. Ciò suggerisce un utilizzo più efficiente degli AA (Eugenio et al., 2023). Infatti, la strategia di ridurre quanto possibile la quantità di proteine grezze e integrare con AA si sta diffondendo, tuttavia studi mostrano che nonostante i fabbisogni AA siano assicurati attraverso l'impiego di AA di sintesi, le performance e la secrezione di azoto stesso non sempre sembrano mantenersi o migliorare. Per questo motivo, lo scopo della presente prova è stato di valutare, non solo l'effetto della somministrazione di diete a basso contenuto proteico, bensì associare tali diete ad un rapporto di amilosio/amilopectina più basso. Agendo in questo modo, auspicabilmente, si sincronizza la disponibilità di energia e AAs sintetici per la sintesi di proteine. Per questo motivo, nella dieta del gruppo TRT è stata utilizzata la varietà di mais Waxy.

## **Obiettivo**

Valutare l'effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico associato all'impiego di amido a basso rapporto amilosio/amilopectina sullo stato di salute, i comportamenti aggressivi e l'emissione di GHG e ammoniaca

## **Materiali e metodi**

Lo studio è stato condotto presso il sito 2 del gruppo GESCO Società Agricola Maiella SS e in seguito presso il sito 3 Società Agricola Balestrieri di Roccabianca (PR) e finanziato nell'ambito del PSR dell'Emilia-Romagna.

Al (d0), 1950 suini con peso medio 6.09 kg sono stati accasati presso il sito 2, nel capannone 4. Al d13, il personale Unibo, coadiuvato dal personale del gruppo GESCO, ha selezionato 398 animali, pesati individualmente e identificati tramite l'apposizione di una marca auricolare numerata.



**Immagine 1.** Selezione del campione di animali scelti per i campionamenti durante tutta la durata della prova sperimentale in sito 2 e sito 3. In foto i tecnici Unibo e GESCO durante l'apposizione delle marche auricolari e le pesate dei suinetti presso l'allevamento Società Agricola Maiella SS.

In base al peso vivo, gli animali sono stati divisi in 8 box: 3 box da 50 animali e uno da 49 animali di sesso maschile e 3 box da 50 animali più uno da 49 animali con individui di sesso femminile. I box erano identici in termini di dimensioni ed allestimenti. Ogni box era lungo 413 cm e largo 367 cm, per un totale di 15.16 m<sup>2</sup> a disposizione degli animali presenti nel box. La mangiatoia presente nei box era lunga 114 cm e larga 25 cm. Le misurazioni sono state effettuate con un Laser Distance Meter (Extech DT40M, Nashua, NH, USA). Il capannone presentava un sistema di ventilazione naturale. All'interno del box era presente un abbeveratoio a vaschetta e in ogni box erano presenti due arricchimenti ambientali: una catena in acciaio e della paglia. I box presentavano pavimento in cemento completamente grigliato.

Durante la permanenza in sito 2 tutti gli animali in prova hanno ricevuto lo stesso trattamento alimentare, formulato dal gruppo Amadori in accordo con il professore Paolo Trevisi dell'Università di Bologna seguendo le prescrizioni del disciplinare del prosciutto di Parma. In continuità con i risultati ottenuti dall'Azione 1 del progetto è stata impiegata una dieta caratterizzata da una bassa proteina e alta amilopectina (804) per tutti gli animali in prova.

Il piano alimentare era ripartito in tre fasi per soddisfare i fabbisogni di accrescimento degli animali ed è riportato in **Tabella 1**.



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

Al termine della permanenza prevista per gli animali in sito 2, al d70 i 1544 suini sono stati spostati ad accasati nel sito 3. All'arrivo il peso medio degli animali era pari a 36.76 kg. I suinetti sono stati scaricati e suddivisi dei due capannoni di cui si compone l'allevamento.

I due capannoni erano identici, sia come dimensioni, sia in termini di allestimenti. Ciascun capannone presentava 1 box infermeria e 13 box di uguali dimensioni: 9 metri di lunghezza e 7 metri di larghezza, per un totale di 63 m<sup>2</sup> 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 meccanica. All'accasamento in sito 3 al d70, i 398 animali marcati sono stati individualmente pesati e sulla base dei pesi sono stati costituiti due gruppi: il gruppo CO e il gruppo TRT, omogenei per peso e sesso. Entrambi i gruppi sono poi stati suddivisi in 3 box da 64 animali di sesso misto, bilanciati per sesso. Tutti i box disponevano di arricchimenti ambientali: un tronchetto di legno morbido ed una rastrelliera porta paglia. I box presentavano pavimento in cemento completamente grigliato. All'interno del box erano presenti sei abbeveratoi a succhiotto di cui quattro con tazza e quattro mangiatoie di lunghezza pari a 56 cm e larghezza 38cm, che equivaleva a 5.9 cm/suino di fronte mangiatoia a disposizione.

In sito 3 tutti gli animali hanno seguito il piano alimentare, formulato dal Gruppo GESCO in accordo con il professore Paolo Trevisi dell'Università di Bologna seguendo le prescrizioni del disciplinare del prosciutto di Parma. Nel dettaglio, tutti i suini del Capannone 2 hanno ricevuto la dieta standard adottata dal Gruppo GESCO per la fase d'ingrasso (CO), mentre tutti i suini del Capannone 1 hanno ricevuto una dieta a ridotto tenore proteico e caratterizzata da un diverso rapporto tra amilosio/amilopectina del mais impiegato (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 è stata somministrata dal d70 al d107, la dieta di Fase 2 è stata somministrata dal d108 al d139, mentre la dieta di Fase 3 è stata somministrata dal d140 al d236. In tutte le fasi l'alimento, sotto forma di pellet, è stato somministrato ad libitum. In **Tabella 2** è riportata la composizione delle diete sperimentali adottate durante la permanenza in sito 3. In **Tabella 3** sono riportati i valori di amido, amilosio, amilopectina e il rapporto amilosio/amilopectina nelle diete impegnate durante la sperimentazione.

#### Rilevamenti e campionamenti

Prima dello spostamento in sito 3, al d63, il personale Unibo si è recato presso il sito 2 del gruppo GESCO Società Agricola Maiella SS per i rilevamenti sullo stato di salute e benessere degli animali. Questi rilevamenti sono stati svolti mensilmente fino alla macellazione degli animali, quindi anche in sito 3. In particolare, 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®.

Per la valutazione delle lesioni alla coda è stato utilizzato un punteggio da 0 a 2. Dove 0 equivale all'assenza di lesioni da morso alla coda, 1 segni di morsi e lesioni superficiali ma senza evidenza di sanguinamento o gonfiore (un'area rossa sulla coda non è considerata come ferita a meno che non sia associata a sanguinamento), mentre 2 corrisponde a sanguinamento visibile sulla coda, gonfiore e infezione o parte del tessuto mancante con formazione di un'escara. Lo stesso vale per le lesioni alle orecchie, dove i punteggi sono stati assegnati come segue: 0 = fino a 4 lesioni visibili; 1 = da 5 a 10 lesioni visibili; 2 = da 11 a 15 lesioni

visibili. 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.

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. 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.

Nelle stesse giornate dedicate ai rilevamenti sullo stato di salute e benessere degli animali sono stati rilevati i parametri ambientali nei box dove erano accasati gli animali con marca auricolare. In particolare, i dati raccolti sono stati i seguenti: intensità della luce, anidride carbonica (CO<sub>2</sub>), ammoniaca (NH<sub>3</sub>) e acido solfidrico (H<sub>2</sub>S). 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).

Il peso vivo degli animali con marca auricolare è stato registrato al d13 in occasione dell'accasamento in sito 2, poi di nuovo al d70 (accasamento in sito 3) e al d106, appena prima del passaggio dalla dieta di Fase 1 alla dieta di Fase 2. In questa data sono stati pesati un totale di 162 animali corrispondenti ad un box per dieta; non è stato possibile pesare tutti gli animali in prova a causa del caldo eccessivo. A causa dell'emergenza sanitaria legata alla Peste Suina Africana non è stato possibile pesare gli animali in concomitanza del passaggio dalla dieta di Fase 2 alla dieta di Fase 3. Quindi l'ultimo rilevamento del peso è avvenuto prima delle macellazioni, al d231.

Tra i suini identificati con marca auricolare numerata è stato creato un ulteriore sottogruppo di trentadue soggetti (16 suini/trattamento) bilanciato per sesso da cui nel d81, nel d106 e nel d231 sono stati prelevati campioni di feci per l'analisi del microbiota e per misurare il contenuto di NH<sub>3</sub> e marcatori dello stato di salute dei suini.



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

La **Tabella 4** riassume tutti i tipi di campionamenti svolti durante la prova. Durante tutto il periodo di permanenza dei suini in sito 3, le mortalità sono state registrate quotidianamente. Al termine della fase d'ingrasso tutti i suini presenti nell'allevamento sono stati macellati presso il macello Mec Carni e hanno seguito il piano di analisi previsti nell'Azione 3. In particolare, al d228, 366 animali per gruppo sono stati inviati al macello; la media del peso vivo registrata sul camion era pari a 178.6 kg per il gruppo CO e 176.5 kg per il gruppo TRT. La settimana successiva, nel d235 sono stati caricati ed inviati al macello 320 animali del gruppo CO, con peso medio registrato dal camion pari a 190.9 kg; e 313 animali del gruppo TRT con peso medio pari a 189.6 kg.

#### 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 V3-V4 del gene 16S rRNA su piattaforma Illumina Miseq.

#### 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N per diluire 1 g di campione di feci.

#### Analisi dell'ammoniaca dalle feci

Per la determinazione dell'NH<sub>3</sub>, 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'NH<sub>3</sub> 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 µmol/g feci.

#### Marcatori dello stato di salute: calprotectina

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. Prima dell'analisi, i campioni di feci sono stati diluiti 1:70 in Phosphate Buffer Saline a pH 7.4 (PBS). I campioni sono stati analizzati in doppio. L'assorbimento dei campioni è stata letta a 450nm utilizzando il lettore multipiastra Multiskan FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific). La concentrazione di calprotectina è stata calcolata utilizzando una curva parametrica a quattro punti ed espressa in ng/ml.

#### 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, la concentrazione di NH<sub>3</sub> e acidi grassi volatili (AGV) nelle feci sono stati analizzati tramite la funzione "lmer" del pacchetto lme4 ed utilizzando un modello cosiddetto "linear mixed-effects". Per i dati raccolti in Sito II il fattore fisso considerato è stato il trattamento dietetico, ed il box il fattore random. Invece, per i dati raccolti in Sito III i fattori fissi considerati sono stati il

trattamento dietetico, il sesso e la loro interazione, mentre il fattore random è stato il box. Come confronto post-hoc è stato utilizzato il test di Sidak, confrontando l'effetto della dieta all'interno di ciascun sesso.

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 sesso, la dieta, i tempi di campionamento e l'interazione tra dieta e 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, il tempo di campionamento, loro interazione ed il sesso. 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. Inoltre, sia per gli indici di alfa e beta diversità all'interno di ogni singolo tempo di campionamento è stato analizzato l'effetto del fattore dieta utilizzando rispettivamente un modello anova e permanova.

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, salute e comportamento

In **Tabella 5** sono riportati i dati riferiti alle prestazioni di crescita dei suini marcati. La dieta ed il sesso non hanno influenzato il peso degli animali in prova in nessuno dei tre rilevamenti, così come non sono state rilevate differenze per l'incremento ponderale giornaliero (IPG).

La **Tabella 6** riporta 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. La tabella mostra che in relazione alle diete sperimentali non vi sono differenze statisticamente significative sulla prevalenza o sulla gravità delle lesioni riscontrate alle code o alle orecchie dei suini in prova. Per quanto riguarda gli indici di comportamento, espressi come percentuale del valore medio di animali che attuavano il comportamento in questione, si evidenzia una maggiore frequenza di interazioni negative nel gruppo TRT al d81 (P = 0.01), ed una maggiore attuazione di comportamento esplorativo nel box, sempre nel gruppo TRT, al d120 (P = 0.03). Infine, al d182, il gruppo CO tende a presentare una frequenza maggiore di interazioni positive (P = 0.07), mentre il gruppo TRT tende ad interagire maggiormente con gli arricchimenti ambientali presenti nei box (P = 0.06).

## Parametri ambientali

La **Tabella 7** riporta i parametri ambientali dei box in cui erano accasati i suini con marca auricolare. In tutti i casi i dati evidenziano un effetto significativo del giorno di campionamento (day), ad eccezione dei dati riguardanti la concentrazione di H<sub>2</sub>S durante la permanenza in sito 2.

La dieta influenza significativamente (P=0.02) la concentrazione di CO<sub>2</sub> in sito 3 e tende ad influenzare la concentrazione di H<sub>2</sub>S, sempre in sito 3. Anche l'interazione tra dieta e tempo è stata valutata e ha sempre un impatto significativo (P<0.0001) nei parametri ambientali registrati in sito 3. Differenze significative nella concentrazione di tutti i gas rilevati tra i box del CO e i box del TRT sono emerse al d211 e al d231 per quanto riguarda l'H<sub>2</sub>S (P=0.08; P=0.006) e solo nel d211 per CO<sub>2</sub> (P=0.006) e NH<sub>3</sub> (P=0.04).

## Fermentazioni e microbiota fecale

In **Tabella 8** sono riportate le concentrazioni degli AGV presenti nelle feci campionate ai giorni 81 (d81), 106 (d106) e 231 (d231). Per quanto riguarda l'effetto della dieta sulla concentrazione degli AGV nelle feci, gli AGV totali e l'acido butirrico al d81 sono stati influenzati dal sesso (P = 0.01 e P < 0.01) e dall'interazione tra sesso e dieta (P < 0.01), con valori maggiori nei maschi del gruppo TRT rispetto ai maschi del gruppo CO. Nello stesso periodo, la concentrazione di acido acetico è stata significativamente influenzata dall'interazione tra sesso e dieta, ma non sono stati evidenziati contrasti significativi. Al d106, gli AGV totali sono stati influenzati dal sesso (P = 0.01), con valori più alti nelle femmine rispetto ai maschi. Al d231, gli AGV totali sono stati tendenzialmente influenzati dall'interazione tra sesso e dieta (P = 0.09), con valori maggiori nei maschi del gruppo TRT rispetto ai maschi del gruppo CO. Nello stesso periodo, la concentrazione di acido butirrico è stata significativamente influenzata dall'interazione tra sesso e dieta (P < 0.001), con valori maggiori nei maschi del gruppo TRT rispetto ai maschi del gruppo CO.

In **Tabella 9** sono riportate le concentrazioni di NH<sub>3</sub> e Calprotectina nelle feci campionate ai giorni 81 (d81), 106 (d106) e 231 (d231). La tabella mostra che, durante tutto il periodo di studio, la concentrazione di NH<sub>3</sub> fecale non è stata influenzata né dalla dieta, né dal sesso degli animali. Mentre la calprotectina è stata significativamente influenzata dall'interazione tra sesso e dieta al d231 (P = 0.04), ma non sono stati riscontrati confronti significativi tra i gruppi. Non sono state evidenziate differenze negli altri periodi.

Il DNA batterico è stato estratto e amplificato con successo da un totale di 96 campioni. Complessivamente, la procedura di sequenziamento ha prodotto un totale di 3 507 742; dopo il controllo di qualità, sono state conservate in media 36 539 sequenze per campione che, dopo l'analisi bioinformatica, hanno prodotto un totale di 3 849 varianti di sequenza di ampliconi (ASV). Le curve di rarefazione hanno mostrato che il numero di specie diverse, osservato in funzione del numero di sequenze, hanno prodotto un andamento a plateau, indicando che la procedura di sequenziamento è stata in grado di catturare tutta la variabilità presente nei campioni (**Figura supplementare 1**).

Tra le 6 541 ASV recuperati, sono stati identificati 17 phyla, 81 famiglie e 211 generi. I phyla più abbondanti erano Firmicutes (89.10 ± 5.10 %), Bacteroidota (7.26 ± 3.35 %) e Euryarchaeota (1.64 ± 1.46%). Le famiglie più abbondanti erano Streptococcaceae (23.75 ± 16.61 %), Clostridiaceae (13.63 ± 7.68 %), Lactobacillaceae (14.71 ± 15.05 %) e Lachnospiraceae (8.02 ± 4.52 %). I generi più rappresentati erano *Streptococcus* (25.26 ± 17.26 %), *Clostridium sensu stricto 1* (14.45 ± 7.99 %), *Lactobacillus* (12.08 ± 13.12 %) e *Turicibacter* (6.91 ± 11.21 %).

I tre gli indici di alfa diversità sono stati influenzati dall'interazione tra dieta e tempo ( $P < 0.0001$ ), nonché dal tempo (Chao1 e Shannon,  $P < 0.001$ ; InvSimpson,  $P = 0.02$ ) e dal sesso (Chao1,  $P = 0.010$ ; Shannon,  $P = 0.02$ ; InvSimpson,  $P = 0.04$ ). Considerando l'effetto della dieta all'interno di ciascun timepoint, risulta che al d81, la dieta non ha influenzato gli indici Chao1 e Shannon, mentre l'indice InvSimpson era più alto nel gruppo TRT ( $P = 0.04$ ); al d106, gli indici di Chao1 ( $P = 0.001$ ) e Shannon ( $P = 0.02$ ) erano più alti nel gruppo TRT e l'indice InvSimpson tendeva a essere più alto nel gruppo TRT ( $P = 0.07$ ); al d231, tutti gli indici erano più bassi nel gruppo TRT ( $P < 0.001$ ) (**Figura 1**).

Per quanto riguarda la beta diversità analizzata utilizzando la matrice di distanza di Bray Curtis è stato osservato un effetto significativo dell'interazione tra dieta e tempo ( $P = 0.01$ ;  $R^2 = 0.23$ ), della dieta ( $P = 0.013$ ,  $R^2 = 0.023$ ) e del tempo ( $P = 0.001$ ;  $R^2 = 0.052$ ) mentre nessun effetto è stato osservato per il sesso. Considerando i tre tempi separatamente, la dieta non ha influenzato la beta diversità al d81, mentre l'ha influenzata al d106 ( $P = 0.007$ ,  $R^2 = 0.091$ ) e al d231 ( $P = 0.035$ ;  $R^2 = 0.10$ ). Come si può osservare in **Figura 2**, i grafici PcoA mostrano i campioni provenienti dalle diverse diete non hanno formato cluster separati a d81, indicando che la composizione microbica complessiva delle diete sperimentali era simile, mentre dei cluster riconducibili alla dieta sono osservabili al d106 e d231

Per identificare specifici marcatori batterici espressi in modo differenziato tra i trattamenti, è stata condotta l'analisi della dimensione dell'effetto LDA e i risultati sono riportati nella **Figura 3** per d106 e d231, rispettivamente. A d81, non sono stati identificati marcatori batterici specifici associati alle diete. Al d106, il gruppo TRT era caratterizzato da una maggiore abbondanza di 9 biomarcatori microbici specifici; tra questi, il gruppo TRT presentava una maggiore abbondanza di *Clostridium sensu stricto 1* (punteggio dell'analisi lineare discriminante (LDA) = 4.81,  $P_{adj.} = 0.002$ ), *Terrisporobacter* (LDA score = 4.46,  $P_{adj.} = 0.003$ ), *Turicibacter* (LDA score = 4.44,  $P_{adj.} = 0.004$ ), UCG-005 che appartiene alla famiglia delle Oscillospiraceae (LDA score = 4.26,  $P_{adj.} < 0.0001$ ) e *Romboutsia*. 0001) e *Romboutsia* (LDA score = 3.69,  $P_{adj.} = 0.01$ ); il gruppo CO è stato caratterizzato da una maggiore abbondanza di 8 biomarcatori microbici specifici, tra cui *Lactobacillus* (LDA score = 4.97,  $P_{adj.} = 0.02$ ), HT002 che appartiene al gruppo *Lactobacillus* (LDA score = 4.34;  $P_{adj.} = 0.02$ ), *Methanosphaera* (LDA score = 3.64;  $P_{adj.} = 0.02$ ), *Subdoligranulum* (LDA score = 3.61;  $P_{adj.} = 0.03$ ) e *Ruminococcus gausvreauii* (LDA score = 3.44;  $P_{adj.} = 0.01$ ). Al d231, il gruppo TRT era caratterizzato da una maggiore abbondanza di 3 biomarcatori microbici specifici; tra questi, il TRT aveva una maggiore abbondanza di *Clostridium sensu stricto 1* (LDA score = 4.91,  $P_{adj.} = 0.009$ ), *Terrisporobacter* (LDA score = 4.45,  $P_{adj.} = 0.02$ ) e *Intestinibacter* (LDA score = 3.04,  $P_{adj.} = 0.04$ ); il gruppo CO era caratterizzato da una maggiore abbondanza di *Ruminococcus gausvreauii* (LDA score = 3.44;  $P_{adj.} = 0.01$ ); il gruppo CO era caratterizzato da una maggiore abbondanza di 6 biomarcatori microbici specifici, tra cui *Streptococcus* (punteggio LDA = 5.24,  $P_{adj.} = 0.014$ ), Christensenellaceae R-7 group (LDA score = 4.04;  $P_{adj.} = 0.04$ ), *Methanobrevibacter* (LDA score = 3.74;  $P_{adj.} = 0.04$ ), *Treponema* (LDA score = 3.48;  $P_{adj.} = 0.03$ ) e UCG-008 che appartiene alla famiglia delle Butyricocccaceae (LDA score = 3.34;  $P_{adj.} = 0.02$ ).

## Discussione

Il presente studio mostra come la somministrazione di una dieta da ingrasso a ridotto contenuto proteico sia nella fase di ingrasso che finissaggio e l'impiego di una varietà di mais alternativa non influenza le performance di crescita degli animali, tendendo a ridurre l'impatto ambientale della filiera sia direttamente,

riducendo la dispersione di gas a effetto serra nell'ambiente, sia indirettamente, riducendo la dipendenza da materie prime come la soia.

Infatti, per quanto riguarda le performance produttive degli animali in sito da ingrasso, la riduzione di PG del 9.5% nelle prime due fasi alimentari, e del 5.6% nella terza fase non hanno compromesso le performance. Tra i deversi studi ritrovati in bibliografia riguardanti l'abbassamento della PG in razione, solamente Wang et al. (2019) hanno riscontrato un minore IPG nel gruppo in cui le PG erano state ridotte di due punti percentuali rispetto alla dieta del gruppo di controllo. Considerato che questi ricercatori hanno condotto la prova su suini dai 30 ai 110 kg, è corretto sottolineare che l'effetto di una dieta a ridotto tenore proteico può essere diverso su animali allevati fino a 190 kg come nel nostro caso. Ad ogni modo, avendo gli studi un peso di partenza simile, possiamo dire che il nostro gruppo TRT ha ottenuto risultati migliori nonostante il livello di PG delle prime fasi alimentari fosse maggiore nello studio di Wang et al. (2019; 14-15% PG) rispetto al presente studio (13-12% PG). Per quel che riguarda altri studi presenti in letteratura, molti mostrano risultati in accordo con quelli del presente studio, infatti l'IPG degli animali riceventi diete a ridotta PG non è influenzato negativamente (Monteiro et al. 2017; Gallo et al. 2014; Wang et al. 2022). Inoltre, Schiavon et al. (2015), così come Galassi et al. (2010), hanno dimostrato che nel suino pesante, il livello di PG può essere ulteriormente abbassato rispetto a quello testato in questa prova, senza effetti negativi sulle performance di crescita degli animali.

Nel presente studio, è stata inoltre impiegata una particolare di mais: il mais Waxy. Gli AA di sintesi si trovano in forma di monomeri di AA, e possono essere assorbiti dalle cellule intestinali o ossidati, non appena raggiungono l'intestino. L'amido presente nella razione, invece, libera glucosio in seguito al processo di idrolisi in seguito alla digestione intestinale. Pertanto, rispetto al glucosio derivato dall'amido, gli aminoacidi cristallini derivanti dalla dieta possono essere rilasciati molto più velocemente. Di conseguenza, le diete a basso contenuto proteico integrate con grandi quantità di aminoacidi cristallini inducono una cinetica asincrona di glucosio ed aminoacidi. Questo può compromettere l'efficienza di utilizzo degli aminoacidi, infatti potrebbero essere consumati più aminoacidi nel metabolismo di primo passaggio e l'efficienza degli aminoacidi utilizzati per la sintesi proteica potrebbe diminuire a causa della carenza di energia nel breve periodo dopo il pasto (Nolles et al., 2009). Pertanto, ottimizzare il rilascio del glucosio della dieta per promuovere l'apporto sincrono di glucosio e aminoacidi può essere un approccio percorribile per migliorare l'efficienza di utilizzo degli aminoacidi nelle diete a bassa PG. L'amido è la principale fonte di glucosio nei mangimi. Rispetto all'amilosio, l'amilopectina ha una forma ramificata che determina una maggiore superficie d'attacco per gli enzimi digestivi. Si caratterizza quindi per un livello di digestione e assorbimento più rapidi. L'amido stesso è il substrato per la fermentazione microbica e può regolare direttamente la comunità batterica e la produzione di acidi grassi a corta catena (Haenen et al., 2013). Inoltre, la differenza nel tasso di digestione dell'amido può causare una variazione nella digestione delle proteine alimentari e quindi influenzare indirettamente la fermentazione microbica delle proteine. Pertanto, è importante studiare l'influenza dei diversi tipi di amido nelle diete a ridotto tenore proteico sulla flora intestinale e sulla produzione di acidi grassi (Zhou et al., 2022).

Ad ogni modo, i risultati di questo studio non sono sufficienti ad affermare che la somministrazione di amido prevalentemente in forma di amilopectina influisce positivamente sull'efficienza di utilizzo degli aminoacidi di sintesi in diete a bassa proteina. Infatti, i dati riguardanti le performance, come precedentemente detto,

sono sovrapponibili ad altri studi in cui è stata testata la riduzione della PG senza modificare la fonte di amido o valutarne la digeribilità. Ad esempio, Gallo e colleghi (2014) hanno applicato una riduzione di PG e lisina più consistente di quella testata nel nostro studio senza peggioramenti a carico delle performance produttive. Probabilmente, l'impiego di una fonte di amido maggiormente digeribile diviene vantaggiosa quando vi è una consistente riduzione della PG e di conseguenza un abbondante impiego di AA di sintesi. Inoltre, nel presente studio, l'ammoniaca fecale non ha presentato differenze significative tra i due gruppi sperimentali. L'ammoniaca viene prodotta nell'intestino crasso a seguito della fermentazione delle proteine indigerite ad opera della popolazione microbica. Livelli più elevati di ammoniaca nelle feci possono indicare una digestione o un'utilizzazione non ottimale delle proteine dietetiche da parte degli animali. In questo studio, sebbene non ci sia stata una riduzione nell'ammoniaca fecale, la dieta TRT ha permesso una riduzione della concentrazione ambientale di  $\text{NH}_3$  oltre che di  $\text{CO}_2$  ed  $\text{H}_2\text{S}$  nelle fasi finali della prova, rispettivamente nei d141 e d141 e d161, nonché del microbiota fecale al d106 e d231.

In passato diversi studi hanno dimostrato che la somministrazione di diete a ridotto tenore proteico possono migliorare l'efficienza di utilizzo dell'N, determinandone una maggiore ritenzione (Monteiro et al. 2017; Galassi et al. 2010) o una minore escrezione a parità di N ingerito (Gallo et al. 2014). Osada et al. (2011) hanno riportato una riduzione dell'N escreto nelle urine e nelle feci di suini alimentati con una dieta a bassa PG pari al 28.7% in meno rispetto a quelli alimentati con la dieta standard. Considerando che la produzione di gas serra dipende dalla conversione del carbonio e dell'N escreto in  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{N}_2\text{O}$ , la riduzione del contenuto proteico della dieta e la conseguente riduzione dell'escrezione di N da parte dei suini, ha la potenzialità di ridurre le emissioni di gas serra (Atakora et al. 2003). Infatti, lo studio di Lee et al. (2017) ha evidenziato emissioni inferiori di  $\text{NH}_3$  ed  $\text{H}_2\text{S}$  da parte di suini alimentati con diete a ridotto tenore proteico (riduzione del 10% della PG) rispetto a quelli ricevuti la dieta di controllo. Quindi il nostro studio, coerentemente alla bibliografia, conferma che la riduzione di PG nella dieta riduce le emissioni di gas dannosi per l'ambiente. A rendere ulteriormente sostenibile l'approccio testato in questa prova è anche la notevole riduzione della farina di soia che caratterizza la dieta del gruppo TRT. Infatti, nelle tre fasi, conseguentemente alla riduzione della PG, anche la farina di soia è stata ridotta rispettivamente del 69.4% nella prima fase, fino alla sostituzione totale nella seconda e terza fase. Considerato che la dipendenza dalla soia, importata dal sud America, è uno dei principali ingredienti che ostacola la sostenibilità della filiera suinicola italiana e europea (Wilke et al., 2023), una riduzione così consistente di questo ingrediente determina un vantaggio importante

Come anticipato in precedenza, la supplementazione di una fonte di amido maggiormente digeribile potrebbe comportare una modifica della comunità microbica intestinale degli animali nonché delle fermentazioni intestinali stessi. Secondo quanto osservato dall'analisi del microbiota fecale avvenuta in tre punti temporali, l'inclusione del mais waxy ha portato ad un aumento degli indici di alfa diversità al giorno 106, risultato che è stata osservata anche nella prova sperimentale condotta in fase di svezzamento (Azione 1). Tale situazione si è invertita al giorno 231, quando la dieta con ridotto contenuto proteico e mais waxy ha mostrato una riduzione degli indici di alfa diversità rispetto alla dieta di controllo. Tale effetto potrebbe essere ascrivibile ad un iniziale adattamento del microbiota alla dieta ed una successiva selezione di quest'ultimo con il tempo. Anche gli indici di beta diversità mostra un effetto della dieta sulla struttura del

microbiota soprattutto ai gironi 106 e 231, confermando che la digeribilità della dieta ed il suo tenore proteico

Sono tra i principali fattori in grado di modulare il microbiota intestinale. È interessante notare come sia ai giorni 106 che 231 il gruppo TRT è stato caratterizzato da una maggior abbondanza di *Clostridium sensu stricto* 1 e *Terrisporobacter*. Questi due generi sono stati promossi da diete a minor tenore proteico anche in studi precedenti in suini post svezzamento (Liu et al., 2021), accrescimento (Chen et al. 2018) e ingrasso (Liu et al., 2023). Inoltre, in quest'ultimo studio gli autori hanno notato che le diete con tenore normale di proteine hanno una maggior abbondanza dei generi *Lactobacillus* e *Streptococcus* che risultano i generi caratterizzanti del gruppo di controllo anche nel presente studio rispettivamente al giorno 106 e 231.

Alcuni studi suggeriscono che *Clostridium sensu stricto* 1 e *Terrisporobacter* siano associati a fenomeni di infiammazione intestinale e diarrea (Hu et al., 2021); tuttavia va considerato che altri studi invece li evidenziano come generi comunemente e abbondantemente presenti nel grosso intestino dei suini (nel nostro studio generi *Clostridium sensu stricto* 1 rappresenta il 14%) (Liao et al., 2024; Wang et al. 2018). Inoltre, secondo alcuni studi, il genere *Clostridium sensu stricto* era anche più abbondante nelle feci (McCormack et al., 2023) e nel cieco (Quan et al., 2018) dei suini caratterizzati da una miglior efficienza alimentare. Tale trend si è notato anche per alcune specie di *Clostridium* (*boltea*, *clostridioforme*, *saccharolyticum*, *cellulosi*, *clariflavum*) nell'ileo (McCormack et al., 2019) cieco (Quan et al., 2018) o feci (Yang et al., 2017). Questo risultato potrebbe essere dovuto alla capacità di degradazione dei polisaccaridi di questo genere.

In generale, gli effetti dovuti alla dieta sul microbiota sembrerebbero dunque maggiormente riconducibili alla riduzione del tenore proteico nella dieta, tuttavia tale constatazione potrebbe essere deviata dal fatto che non vi sono studi che abbiano studiato l'effetto del rapporto amilosio/amilopectina sul microbiota fecale di suini in accrescimento e finissaggio; infatti vi sono un numero di studi limitati che hanno valutato l'effetto di tale variazione della razione sul microbiota intestinale ma nelle fasi di svezzamento (citare nostro articolo, Wang et al., 2022).

Il nostro studio ha previsto inoltre il monitoraggio di parametri di salute e benessere sugli animali poiché diversi studi in passato hanno evidenziato una correlazione tra l'abbassamento della proteina in razione e l'aumento di comportamenti aggressivi. In passato Almeida et al. (1994) hanno condotto uno studio sui ratti, dimostrando che gli animali la cui dieta era carente di proteina trascorrevano molto più tempo ad esplorare l'ambiente rispetto agli animali del gruppo di controllo. Brunberg et al. (2016) hanno evidenziato che anche nel suino comportamenti esplorativi anomali, che possono sfociare in una "iper-attività" degli animali, possono essere causati da fattori di carenze nutrizionali. Questo perché i livelli dietetici di alcune sostanze possono agire direttamente sulla secrezione di determinati ormoni, o su neurotrasmettitori, determinando l'aumento o la diminuzione di comportamenti anomali. Dai nostri rilievi comportamentali, è emerso che al d11 i suini del gruppo TRT hanno un numero maggiore di interazioni negative, al d50, sempre nel gruppo TRT vi è un maggiore frequenza di esplorazione del box e al d112 una maggiore interazione con gli arricchimenti ambientali. Queste osservazioni inducono a pensare che i suini del gruppo TRT fossero più attivi e inquieti di quelli del gruppo CO. Van der Meer et al. (2017) hanno rilevato che riducendo del 20% la PG della dieta aumentavano le lesioni a coda ed orecchie. Anche se in questo caso la dieta a ridotto tenore proteico non era stata bilanciata per gli AAs essenziali. Di conseguenza, le ripercussioni comportamentali negative sono ascrivibili ad una carenza o uno squilibrio amminoacidico. Nel nostro caso, la compensazione del profilo amminoacidico con AAs di sintesi ha permesso la formulazione di diete differenti per il livello di PG ma

isoamminoacidiche. A tal proposito ci sono evidenze che la Lisina abbia un ruolo preponderante rispetto alla bassa PG nel prevenire i comportamenti aggressivi ed i casi di morsicatura della coda rispetto agli arricchimenti ambientali. Dunque, sebbene i risultati di questo studio non siano totalmente allineati con quanto emerso dallo studio di Minussi et al. (2023), dove la dieta con ridotto tenore di PG e isoamminoacidi non è stata sufficiente a contrastare l'irrequietezza degli animali, tuttavia si conferma il contenimento di comportamenti estremamente aggressivi degli animali in quanto non sono state registrate differenze significative per quel che riguarda l'LSI di coda e orecchie tra i due gruppi sperimentali. Quindi se da un lato la dieta TRT ha causato una maggiore attività degli animali, dall'altro non ha determinato l'esacerbarsi di comportamenti aggressivi.

## Bibliografia

- Almeida, S.S., Garcia, R.A., Cibien, M.M.R., De Araujo, M., Moreira, G.M.S., De Oliveira, L.M., 1994. The ontogeny of exploratory behaviors in early-protein-malnourished rats exposed to the elevated plus-maze test. *Psychobiology* 22, 283–288. <https://doi.org/10.3758/BF03327111>
- Atakora, J.K.A., Möhn, S., Ball, R.O., 2003. Low protein diets reduce greenhouse gas production in finisher pigs while maintaining animal performance, in: *Progress in Research on Energy and Protein Metabolism*. Wageningen Academic, pp. 331–333. [https://doi.org/10.3920/9789086865208\\_058](https://doi.org/10.3920/9789086865208_058)
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S 2. 2017. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R Packag version 11-4, 29.
- 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>
- Boerema, A., Peeters, A., Swolfs, S., Vandevenne, F., Jacobs, S., Staes, J., Meire, P., 2016. Soybean Trade: Balancing Environmental and Socio-Economic Impacts of an Intercontinental Market. *PLOS ONE* 11, e0155222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155222>;
- Brunberg, E.I., Rodenburg, T.B., Rydhmer, L., Kjaer, J.B., Jensen, P., Keeling, L.J., 2016. Omnivores Going Astray: A Review and New Synthesis of Abnormal Behavior in Pigs and Laying Hens. *Frontiers in Veterinary Science* 3.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13, 581–583.
- Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Schutte, J.B., Sutton, A., Langhout, D.J., Verstegen, M.W.A., 1998. Dietary protein affects nitrogen excretion and ammonia emission from slurry of growing–finishing pigs. *Livestock Production Science* 56, 181–191. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(98\)00156-0](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(98)00156-0)
- Chen, X., Song, P., Fan, P., He, T., Jacobs, D., Levesque, C. L., ... & Ma, X. 2018. Moderate dietary protein restriction optimized gut microbiota and mucosal barrier in growing pig model. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 246.
- de Visser, C., Schreuder, R., Stoddard, F., 2014. The EU's dependence on soya bean import for the animal feed industry and potential for EU produced alternatives;

- Dixon, P., 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science* 14, 927–930.
- Eugenio, F. A., van Milgen, J., Duperray, J., Sergheraert, R., & Le Floc'h, N. (2023). Feeding pigs amino acids as protein-bound or in free form influences postprandial concentrations of amino acids, metabolites, and insulin. *Animal*, 17(1), 100684. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100684>
- Galassi, G., Colombini, S., Malagutti, L., Crovetto, G.M., Rapetti, L. (2010) Effects of high fibre and low protein diets on performance, digestibility, nitrogen excretion and ammonia emission in the heavy pig. *Animal Feed Science and Technology* 161(3–4), 140-148. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.08.009>
- Gallo, L., Montà, G. D., 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>
- Haenen D, Zhang J, Souza da Silva C, Bosch G, van der Meer IM, van Arkel J, et al. 2013. A diet high in resistant starch modulates microbiota composition, AGV concentrations, and gene expression in pig intestine. *J Nutr.*143(3):274–83.
- Hu, C., Niu, X., Chen, S., Wen, J., Bao, M., Mohyuddin, S. G., ... & Ju, X. 2021. A comprehensive analysis of the colonic flora diversity, short chain fatty acid metabolism, transcripts, and biochemical indexes in heat-stressed pigs. *Frontiers in Immunology*, 12, 717723.
- Lee, J.H., Kim, H.B., Yun, W., Kwak, W.G., Lee, C.H., Oh, H.J., Kim, D.W., Song, M.H., Cho, J.H., 2017. Effects of reducing dietary crude protein and metabolic energy in weaned piglets. *South African Journal of Animal Science* 47, 574–581. <https://doi.org/10.4314/sajas.v47i4.16>
- Liao, S. F., Ji, F., Fan, P., & Denryter, K. 2024. Swine Gastrointestinal Microbiota and the Effects of Dietary Amino Acids on Its Composition and Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 1237.
- Liu, R., He, J., Ji, X., Zheng, W., & Yao, W. 2021. A moderate reduction of dietary crude protein provide comparable growth performance and improve metabolism via changing intestinal microbiota in Sushan nursery pigs. *Animals*, 11(4), 1166.
- Liu, S.H., Xie, J.Y., Fan, Z.Y., Ma, X.K., Yin, Y.L. 2023 Effects of low protein diet with a balanced amino acid pattern on growth performance, meat quality and cecal microflora of finishing pigs. *J. Sci. Food Agric*, 103, 957–967
- McCormack, U.M., Curião, T., Buzoianu, S.G., Prieto, M.L., Ryan, T., Varley, P., Crispie, F., Magowan, E., Metzler-Zebeli, B.U., Berry, D., et al. 2017. Exploring a possible link between the intestinal microbiota and feed efficiency in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 83, e00380-17.
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS One* 8, e61217.
- Minussi, I., Gerrits, W.J.J., Jansman, A.J.M., Gerritsen, R., Lambert, W., Zonderland, J.J., Bolhuis, J.E., 2023. Amino acid supplementation counteracts negative effects of low protein diets on tail biting in

- pigs more than extra environmental enrichment. *Sci Rep* 13, 19268.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-45704-0>
- Monteiro, A.N.T.R., Bertol, T.M., de Oliveira, P.A.V., Dourmad, J.Y., Coldebella, A., Kessler, A.M. (2017). The impact of feeding growing-finishing pigs with reduced dietary protein levels on performance, carcass traits, meat quality and environmental impacts. *Livestock science*, 198, 162-169. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.02.014>
  - Nolles, J.A., Verreijen, A.M., Koopmanschap, R.E., Verstegen, M.W.A., Schreurs, V.V. a. M., 2009. Postprandial oxidative losses of free and protein-bound amino acids in the diet: interactions and adaptation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93, 431–438.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00820.x>
  - Osada, T., Takada, R., Shinzato, I., 2011. Potential reduction of greenhouse gas emission from swine manure by using a low-protein diet supplemented with synthetic amino acids. *Animal Feed Science and Technology, Special Issue: Greenhouse Gases in Animal Agriculture - Finding a Balance between Food and Emissions* 166–167, 562–574. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.079>
  - Perez, J. M., & Aumaitre, A. (1979). Waxy versus regular maize: Energy value for growing pigs and utilization in piglet diets. *Animal Feed Science and Technology*, 4(2), 109–115. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(79\)90035-X](https://doi.org/10.1016/0377-8401(79)90035-X)
  - Quan, J., Cai, G., Ye, J., Yang, M., Ding, R., Wang, X., Zheng, E., Fu, D., Li, S., Zhou, S., et al. 2018. A global comparison of the microbiome compositions of three gut locations in commercial pigs with extreme feed conversion ratios. *Sci. Rep.*, 8, 4536.
  - Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Glöckner, F.O., 2012. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 41, D590–D596.
  - Schiavon, S., Carraro, L., Dalla Bona, M., Cesaro, G., Carnier, P., Tagliapietra, F., Sturaro, E., Galassi, G., Malagutti, L., Trevisi, E., Crovetto, G.M., Cecchinato, A., Gallo L. (2015) Growth performance, and carcass and raw ham quality of crossbred heavy pigs from four genetic groups fed low protein diets for dry-cured ham production. *Animal Feed Science and Technology*, 208, 170-181. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.07.009>
  - Shannon, M. C., Allee, G. L., 2010. National swine nutrition guide;
  - van der Meer, Y., Gerrits, W.J.J., Jansman, A.J.M., Kemp, B., Bolhuis, J.E., 2017. A link between damaging behaviour in pigs, sanitary conditions, and dietary protein and amino acid supply. *PLOS ONE* 12, e0174688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174688>
  - Voora, V., Larrea, C., Bermudez, S., 2020. Global Market Report: Soybeans. International Institute for Sustainable Development (IISD);
  - Wang J, Ji H, Wang S, Liu H, Zhang W, Zhang D, et al., 2018. Probiotic *Lactobacillus plantarum* promotes intestinal barrier function by strengthening the epithelium and modulating gut microbiota. *Front Microbiol.* 9:1953. [10.3389/fmicb.2018.01953](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01953)

- Wang, D., Chen, G., Chai, M., Shi, C., Geng, Y., Che, Y., Li, Y., Liu, S., Gao, Y., Hou, H. (2022). Effects of dietary protein levels on production performance, meat quality and flavor of fattening pigs. *Frontiers in nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.910519>
- 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
- Wang, M., Yang, C., Wang, Q., Li, J., Li, Y., Ding, X., ... & Yin, Y. 2022. Effects of Dietary Amylose—Amylopectin Ratio on Growth Performance and Intestinal Digestive and Absorptive Function in Weaned Piglet Response to Lipopolysaccharide. *Animals*, 12(14), 1833.
- Wang, Y.M., Yu, H.T., Zhou, J.Y., Zeng, X.F., Wang, G., Cai, S., Huang, S., Zhu, Z.P., Tan, J.J., Johnston, L.J., Levesque, C.L., Qiao, S.Y. (2019). Effects of feeding growing-finishing pigs with low crude protein diets on growth performance, carcass characteristics, meat quality and nutrient digestibility in different areas of China. *Animal Feed Science and Technology*, 256. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114256>
- Wang, Y.M., Yu, H.T., Zhou, J.Y., Zeng, X.F., Wang, G., Cai, S., Huang, S., Zhu, Z.P., Tan, J.J., Johnston, L.J., Levesque, C.L., Qiao, S.Y., 2019. Effects of feeding growing-finishing pigs with low crude protein diets on growth performance, carcass characteristics, meat quality and nutrient digestibility in different areas of China. *Animal Feed Science and Technology* 256, 114256. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114256>
- 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. *MDPI*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/su15032210>
- Yang, H.; Huang, X.; Fang, S.; He, M.; Zhao, Y.; Wu, Z.; Yang, M.; Zhang, Z.; Chen, C.; Huang, L. 2017. Unravelling the fecal microbiota and metagenomic functional capacity associated with feed efficiency in pigs. *Front. Microbiol.* , 8, 1555.
- Zhou, J., Wang, L., Yang, L., Yang, G., Zeng, X., Qiao, S., 2022. Different dietary starch patterns in low-protein diets: effect on nitrogen efficiency, nutrient metabolism, and intestinal flora in growing pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 13, 78. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00704-4>
- Zhou, J., Wang, L., Zhou, J., Zeng, X., & Qiao, S., 2021. Effects of using cassava as an amylopectin source in low protein diets on growth performance, nitrogen efficiency, and postprandial changes in plasma glucose and related hormones concentrations of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 99(12), skab332. <https://doi.org/10.1093/jas/skab332>

## Tabelle e Figure

**Tabella 1.** Composizione delle diete sperimentali somministrate in sito 2.

Ingredienti, %	Fase 1	Fase 2	Fase 3
	6-8 Kg	8-15 Kg	15-30 Kg
Farina di Biscotti	18	15	-
Mais Waxy	16.5	24.2	34.5
Orzo	10	10	15.0
Frumento	10	8	9.7
Siero di latte in polvere	7.3	4.4	-
Farinaccio	5	4	7.0
Orzo fioccatto	5	5	-
Farinaccio frumento	-	-	17.3
Soia fermentata 52% PG	4.6	6.6	5.0
Girasole	3	3	3.0
Crusca	3	3	-
Uovo polvere	3	-	-
Premix lisina	2.6	2.9	-
Premix (AAs [Thr, Val e Tre], Enzimi, S. cerevisiae)	2	2	-
Lignocellulosa	1.5	1.5	-
Pisello	-	-	3.0
Olio di soia	1.4	1.6	-
Grasso animale	-	-	1.9
Soia FE 46% PG	1	2	5.0
Glutine di frumento	1	1	-
Fosfato bicalcico	0.7	0.8	0.7
Acidi organici	0.7	0.7	0.5
DL-Metionina	0.5	2.2	-
Premix di minerali e vitamine	0.5	0.5	-
Additivi	0.4	0.3	0.1
Premix leu49% ile31% his20%	0.3	0.3	0.4
Additivi	0.3	0.2	0.1
Sale	0.2	0.4	0.7
Colina 75%	0.2	0.2	0.1
Micotox binder	0.1	0.1	0.1
Fitasi 0.05%	0.1	0.1	0.1

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

Treonina L 98%	-	0.1	0.3
L-valina 96.5%	-	0.1	0.2
Lisina 50%	-	-	1.2
Grasso animale	-	-	0.5
Carbonato di calcio	-	-	0.4
Int SUI 0.4%	-	-	0.4
Metionina liquida	-	-	0.2
Additivi	-	-	0.1
Enzima grano 0.05%	-	-	0.1
Triptofano L 98%	-	-	0.1
Adiuvante tecnologico	-	-	0.1
Tannini	-	-	0.1

**Composizione chimica teorica**

Sostanza secca	88.5	88.1	87.7
Proteine	16	15.5	15.9
Lipidi	5.51	5.03	4.5
Fibra	4.16	4.32	4.1
Ceneri	4.59	4.65	4.6
PRO	1.05	1.04	1.0
THR	0.82	0.79	0.8
ARG	0.83	0.81	0.9
SER	0.69	0.62	0.7
GLY	0.56	0.54	0.6
HIS	0.4	0.38	0.4
ILE	0.69	0.63	0.7
LEU	1.29	1.21	1.2
TYR	0.45	0.41	0.4
LYS	1.18	1.16	1.2
MET	0.42	0.44	0.5
CYS	0.29	0.25	0.3
TRP	0.27	0.26	0.3
VAL	0.88	0.85	0.8
PHE	0.66	0.62	0.6
GLU	3	2.93	2.9

**Composizione chimica analizzata**

Sostanza secca	90.7	89.9	87.9
Proteine	16.5	15.6	17.6
Lipidi	5.67	4.54	4.1
Fibra	4.16	3.94	3.3
Ceneri	4.93	5.11	4.8
GLY	0.63	0.61	0.7



Programma di  
Sviluppo Rurale  
dell'Emilia-Romagna  
2014-2020



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

SER	0.75	0.68	0.8
MET	0.43	0.41	0.3
CYS	0.29	0.25	0.3
LYS	1.15	1.11	1.3
THR	0.8	0.75	0.8
TRP	0.26	0.24	-
ARG	0.86	0.83	1.1
ILE	0.67	0.63	0.7
PRO	1.1	1	1.1
LEU	1.27	1.23	1.4
VAL	0.89	0.83	0.9
HIS	0.39	0.38	0.4
PHE	0.73	0.68	0.8
ALA	0.69	0.66	0.8
ASP	1.23	1.17	1.4
GLU	3.21	3.03	3.3

---

**Tabella 2.** Composizione delle diete sperimentali somministrate in sito 3.

Ingredienti, %	FASE 1		FASE 2		FASE 3	
	d70-d108		d109-d140		d141-d235	
	CO	TRT	CO	TRT	CO	TRT
Frumento	5.1	8.9	15.1	20.6	24.2	23.3
Orzo	5.0	5.0	-	-	-	-
Pisello	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8
Girasole FE	5.0	5.5	3.0	5.7	3.0	3.0
Grasso animale	1.5	0.8	1.5	1.0	1.9	1.4
Farinaccio di frumento	19.3	19.3	19.3	17.8	9.3	11.9
Carbonato di calcio 39.5%	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9
Fosfato-bicalcio	0.1	0.2	-	-	-	-
Sale	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Colina 75%	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-
Premix Vitaminico,minerale 0.5%	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
Lisina 50%	0.7	1.1	0.7	1.0	0.7	0.9
Treonina 98%	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2
Soia FE	9.8	3.0	7.4	-	5.2	-
Adiuvante tecnologico	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Mais	45.9	-	45.6	-	48.5	-
Fitasi	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Enzima grano 0.05%	0.1	0.1	-	-	-	-
I.VITAVOL+OLIGO 0.5%	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
Premix leu49% ile31% his20%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Metionina 99%	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
DL METIONINA POL. 99%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Mais waxy	-	48.2	-	46.2	-	52.0
L-Valina 96.5%	-	0.1	-	0.1	-	0.1
L-Triptofano 98%	-	0.0	-	0.0	-	0.0
HISTIDINA HCL 72%	-	0.0	-	0.0	-	0.0
ISOLEUCINA 92%	-	0.1	-	0.1	-	0.1
LEUCINA 96.5%	-	0.1	-	0.0	-	-

### Composizione chimica teorica

Sostanza secca	87.59	87.22	87.47	87.20	87.58	87.25
Proteina Grezza	15.54	13.66	14.18	12.50	12.72	11.24
Lipidi	4.30	3.70	4.28	3.82	4.40	4.17
Fibra	4.29	4.44	3.78	4.23	3.23	3.46
Ceneri	4.59	4.33	4.18	3.83	3.68	3.47
PRO	0.98	0.88	0.93	0.84	0.87	0.80
THR	0.72	0.71	0.64	0.64	0.58	0.57
ARG	0.97	0.78	0.86	0.69	0.74	0.60
GLY+SER	1.31	1.08	1.18	0.99	1.05	0.87
SER	0.69	0.57	0.63	0.52	0.57	0.47
GLY	0.62	0.52	0.55	0.47	0.48	0.40
HIS	0.39	0.34	0.36	0.31	0.31	0.27
ILE	0.57	0.56	0.51	0.50	0.45	0.44
LEU	1.18	1.07	1.09	0.95	1.00	0.87
TYR	0.47	0.37	0.42	0.33	0.38	0.31
LYS	1.04	1.03	0.93	0.92	0.83	0.82
MET	0.40	0.42	0.35	0.37	0.32	0.34
MET+CYS	0.65	0.65	0.59	0.59	0.54	0.54
CYS	0.26	0.23	0.24	0.22	0.23	0.20
MET CART	0.28	0.25	0.26	0.24	0.25	0.23
MHA	0.11	0.18	0.09	0.13	0.07	0.12
TRP	0.22	0.21	0.19	0.19	0.17	0.17
VAL	0.72	0.70	0.65	0.63	0.58	0.56
PHE	0.67	0.54	0.62	0.50	0.56	0.46
GLU	2.83	2.44	2.67	2.34	2.44	2.12

### Composizione chimica analizzata

Sostanza secca	87.7	88.1	88.4	88.2	87.9	87.6
Proteine	15.8	14.3	14.8	13.4	12.4	11.7
Lipidi	4.43	3.95	4.64	4.31	4.58	4.14
Fibra	4.25	3.72	4.25	3.64	3.14	2.8
Ceneri	4.46	4.33	4.18	4.11	3.63	3.41
GLY	0.7	0.59	0.63	0.55	0.54	0.49
SER	0.73	0.6	0.67	0.56	0.59	0.52
MET	0.3	0.28	0.3	0.27	0.26	0.26
CYS	0.26	0.23	0.24	0.23	0.23	0.22
LYS	1.1	1.05	0.94	0.96	0.87	0.89
THR	0.76	0.71	0.66	0.66	0.59	0.6
TRP	-	-	0.19	0.19	0.17	0.17
ARG	1.04	0.82	0.9	0.75	0.75	0.65
ILE	0.62	0.57	0.53	0.5	0.46	0.48



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

PRO	1	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8
LEU	1.27	1.11	1.15	1.02	1.04	0.95
VAL	0.77	0.71	0.66	0.63	0.58	0.58
HIS	0.4	0.35	0.36	0.33	0.31	0.29
PHE	0.74	0.59	0.66	0.55	0.58	0.51
ALA	0.79	0.66	0.71	0.6	0.63	0.55
ASP	1.39	1.02	1.18	0.9	1	0.79
GLU	3.02	2.55	2.77	2.52	2.45	2.36
TYR	-	-	0.44	0.36	0.39	0.33

**Tabella 3.** Contenuto di Amido, Amilosio e Amilopectina delle diete sperimentali somministrate in sito 2 e sito 3 e del mais waxy utilizzato nella dieta TRT.

Parametro	CO		TRT	
	Media	±	Media	±
<b>Fase 1 - Sito 2</b>				
Amido	-	-	34.5	1.1
Amilosio	-	-	4.4	1.3
Amilopectina	-	-	30.1	9
Amilosio\Amilopectina	-	-	14.6	4.4
<b>Fase 1 (d70-d108) - Sito 3</b>				
Amido	41.70	1.70	41.75	0.49
Amilosio	5.40	0.57	1.80	0.42
Amilopectina	36.30	1.13	39.95	0.07
Amilosio\Amilopectina	14.85	1.06	4.55	1.06
<b>Fase 2 (d109-d140) - Sito 3</b>				
Amido	42.9	1.20	45.1	1.20
Amilosio	6.6	2.00	2.4	0.7
Amilopectina	36.5	10.90	42.7	12.80
Amilosio\Amilopectina	18.2	5.50	5.6	1.70
<b>Fase 3 (d141-d235) - Sito 3</b>				
Amido	48.25	1.20	48.10	1.70
Amilosio	7.30	0.71	4.70	0.14
Amilopectina	40.95	0.49	43.40	1.56
Amilosio\Amilopectina	17.85	1.48	10.85	0.07
<b>Mais waxy</b>				
Amido	-	-	66.15	1.63
Amilosio	-	-	2.40	1.13
Amilopectina	-	-	63.75	2.76
Amilosio\Amilopectina	-	-	3.80	1.98

**Tabella 4.** Campionamenti e attività svolte durante la prova.

Giorno (d)	Attività
0	Accasamento in sito 2
13	Registrazione del peso
63	Lesioni, comportamenti, gas ambientali
70	Accasamento in sito 3 – Registrazione del peso
81	Feci, lesioni, comportamenti, gas ambientali
106	Registrazione del peso, feci, lesioni, gas ambientali
120	Lesioni, comportamenti, gas ambientali
182	Lesioni, comportamenti, gas ambientali
211	Lesioni, comportamenti, gas ambientali
231	Registrazione del peso, feci, lesioni, gas ambientali
236	Macellazioni

**Tabella 5.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina sulle performance di accrescimento di suini in accrescimento e ingrasso.

Parametro	Dieta <sup>1</sup>		SEM	Sesso		SEM	P value	
	CO	TRT		F	M		Dieta	Sesso
<b>Peso vivo (Kg)</b>								
d13	8.19	8.12	0.07	8.11	8.21	0.07	0.48	0.32
d70	35.90	35.40	0.38	35.60	35.70	0.33	0.48	0.32
d106*	70.20	72.70	2.14	71.00	72.70	1.60	0.39	0.38
d230	190.00	192.00	1.38	190.00	192.00	1.34	0.23	0.34
<b>Incremento ponderale giornaliero (g/giorno)</b>								
d13-d70	485.00	479.00	5.53	483.00	482.00	4.97	0.40	0.89
d70-d106	923.00	1029.00	60.70	960.00	992.00	46.70	0.19	0.38
d106-d230	954.00	973.00	32.00	974.00	953.00	25.40	0.65	0.35
d70-d230	951.00	983.00	25.20	969.00	965.00	20.00	0.31	0.83

Dieta<sup>1</sup>: CO= dieta di controllo; TRT= dieta caratterizzata da basso tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina. Statistica e relative medie dei parametri produttivi individuali “peso vivo (kg)” e “incremento ponderale giornaliero (g/giorno)” dei suini con marca auricolare in funzione della dieta e del sesso. P-value significativo se < 0.05.

\*nel d106 il peso è stato rilevato solo su 162 soggetti tra quelli con marca auricolare

**Tabella 6.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina su parametri legati ad aggressività, benessere e comportamento.

Parametro	Dieta <sup>1</sup>		SEM	P-value
	CO	TRT		
d13				
Lesioni, <i>n</i>				
LSI orecchie	23.1	36.1	10.8	0.43
LSI code	7.00	8.50	7.79	0.90
d63				
Comportamenti, %				
Riposo	54.3	56.3	1.61	0.41
Suzione	0.00	0.31	0.14	0.17
Interazioni positive	4.59	6.11	0.82	0.24
Interazioni negative	5.35	2.40	1.23	0.14
Esplorazione dell'arricchimento	1.26	1.67	0.38	0.47
Esplorazione del box	21.1	19.6	1.91	0.60
Altri comportamenti	13.5	13.7	1.08	0.88
Lesioni, <i>n</i>				
LSI orecchie	47.9	37.6	9.02	0.45
LSI code	76.7	57.1	8.38	0.15
d81				
Comportamenti, %				
Riposo	81.5	77.5	1.93	0.22
Suzione	0.31	0.42	0.30	0.81
Interazioni positive	3.23	3.35	0.20	0.70
Interazioni negative	0.94	1.36	0.07	0.01
Esplorazione dell'arricchimento	0.21	0.63	0.37	0.47
Esplorazione del box	8.02	9.10	1.34	0.60
Altri comportamenti	5.83	7.63	0.70	0.14
Lesioni, <i>n</i>				
LSI orecchie	69.8	79.4	16.1	0.69
LSI code	97.9	79.9	18.2	0.52
d106				
Lesioni, <i>n</i>				
LSI orecchie	71.5	60.6	10.8	0.52
LSI code	41.2	44.4	14.7	0.89
d120				
Comportamenti, %				
Riposo	60.1	54.1	2.45	0.16
Suzione	0.11	0.11	0.11	0.98
Interazioni positive	4.43	4.37	0.68	0.95
Interazioni negative	1.99	1.81	0.14	0.42
Esplorazione dell'arricchimento	2.85	2.77	0.85	0.95

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

	Esplorazione del box	18.1	23.8	1.21	0.03
	Altri comportamenti	12.2	13.0	1.11	0.66
	Lesioni, <i>n</i>				
	LSI orecchie	61.0	70.7	6.58	0.35
	LSI code	45.1	57.4	11.7	0.50
d182					
	Comportamenti, %				
	Riposo	69.0	69.9	5.47	0.91
	Suzione	0.12	0.00	0.08	0.37
	Interazioni positive	1.95	0.46	0.42	0.07
	Interazioni negative	1.61	1.39	0.31	0.65
	Esplorazione dell'arricchimento	3.58	5.00	0.39	0.06
	Esplorazione del box	15.6	13.9	4.16	0.79
	Altri comportamenti	8.22	9.42	1.09	0.48
	Lesioni, <i>n</i>				
	LSI orecchie	1.17	2.89	1.16	0.35
	LSI code	21.2	23.9	6.6	0.79
d211					
	Comportamenti, %				
	Riposo	82.3	85.8	5.67	0.68
	Suzione	0.23	0.00	0.17	0.37
	Interazioni positive	1.42	1.23	0.64	0.84
	Interazioni negative	0.48	0.13	0.19	0.27
	Esplorazione dell'arricchimento	0.59	0.00	0.30	0.23
	Esplorazione del box	8.67	7.58	3.20	0.82
	Altri comportamenti	6.32	5.26	1.56	0.65
	Lesioni, <i>n</i>				
	LSI orecchie	4.81	1.89	1.17	0.15
	LSI code	19.0	24.8	7.62	0.62
d231					
	Lesioni, <i>n</i>				
	LSI orecchie	18.9	12.9	4.87	0.43
	LSI code	7.39	10.42	2.17	0.38

Dieta<sup>1</sup>: CO= dieta di controllo; TRT= dieta caratterizzata da basso tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina. Statistica e relative medie degli indici di comportamento e salute rilevate in allevamento (sito 2 e sito 3) sugli animali. P-value significativo se < 0.05.

**Tabella 7.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina sulla concentrazione ambientale di anidride carbonica, ammoniaca e acido solfidrico.

Parametro	Day	CO	TRT	SEM	P value		
					day	dieta	day*dieta
CO <sub>2</sub>	d13	0.23	0.23	0.01	<0.0001	0.85	0.79
	d63	0.15	0.15				
	d81	0.12	0.13				
	d106	0.11	0.12				
	d120	0.19	0.13				
	d182	0.20	0.20				
	d211	0.25 <sup>a</sup>	0.14 <sup>b</sup>				
	d231	0.22	0.18				
NH <sub>3</sub>	d13	1.00	1.25	1.28	0.008	0.59	0.66
	d63	3.50	4.75				
	d81	7.55	5.22				
	d106	8.89	8.45				
	d120	16.7	11.2				
	d182	15.1	21.8				
	d211	35.0 <sup>a</sup>	13.2 <sup>b</sup>				
	d231	18.7	14.6				
H <sub>2</sub> S	d13	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
	d63	0.00	0.00				
	d81	0.09	0.13				
	d106	0.00	0.26				
	d120	0.69	0.52				
	d182	0.00	0.00				
	d211	0.38 <sup>a</sup>	0.06 <sup>b</sup>				
	d231	0.57 <sup>a</sup>	0.10 <sup>b</sup>				

Dieta<sup>1</sup>: CO= dieta di controllo; TRT= dieta caratterizzata da basso tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina. Statistica e relative medie degli indici di comportamento e salute rilevate in allevamento (sito 2 e sito 3) sugli animali. P-value significativo se < 0.05.

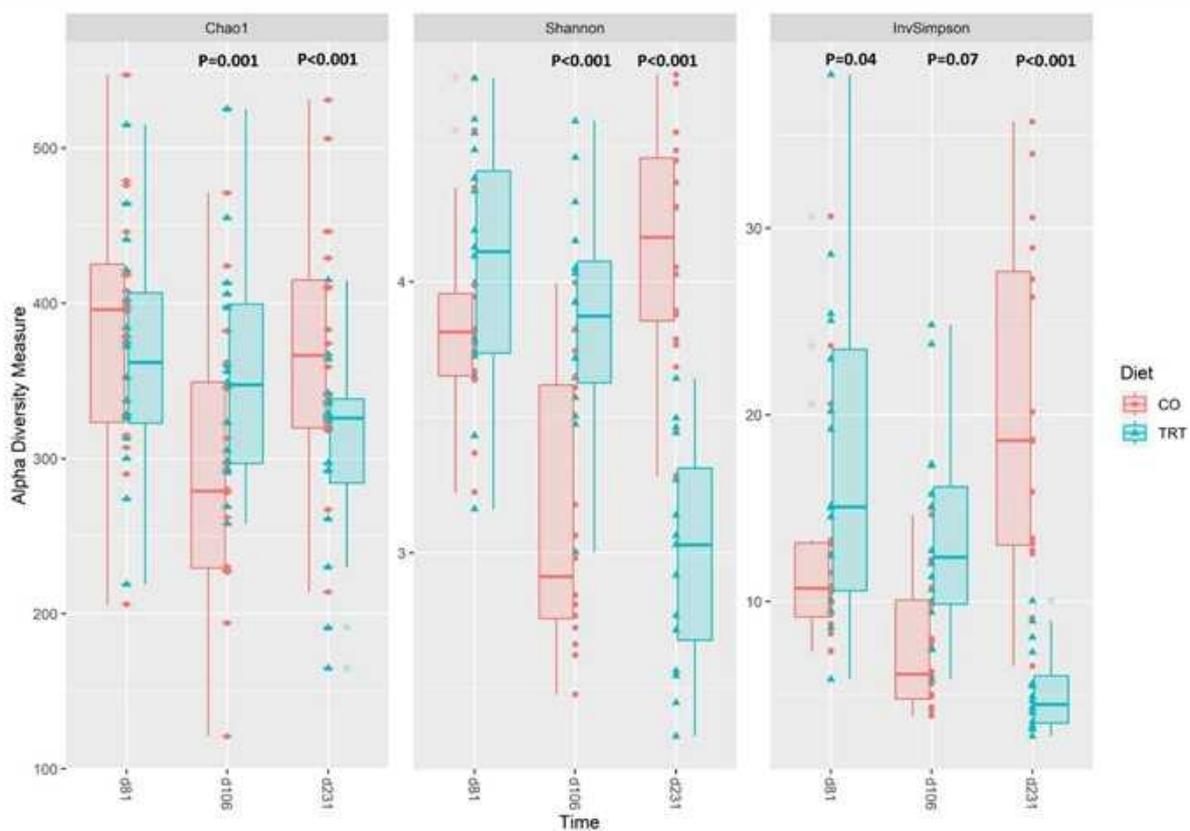
**Tabella 8.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina sulla concentrazione acidi grassi volatili nelle feci (micromoli/grammo).

Parametro	Dieta * Sesso				SEM	P-value		
	F		M			Diet	Sesso	Dieta*Sesso
	CO	TRT	CO	TRT				
<b>Acidi Grassi volatili TOT (micromoli/g)</b>								
d81	414a	474a	401a	520b	35.7	0.18	<b>0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
d106	541	478	451	397	42.6	0.26	<b>0.01</b>	0.83
d231	490a	495a	357a	503b	63.6	0.1	0.94	<b>0.09</b>
<b>Lattico (micromoli/g)</b>								
d81	13.7	14.1	10.8	10.7	2.58	0.38	0.91	0.91
d106	11.91	9.9	16.57	8.66	3.08	0.23	0.57	0.24
d231	16	17.2	14.3	15	3.29	0.79	0.8	0.75
<b>Acetico (micromoli/g)</b>								
d81	209	238	241	211	17.3	0.18	0.12	<b>&lt;0.05</b>
d106	282	246	241	225	32.1	0.35	0.13	0.54
d231	261	252	166	229	36.6	0.04	0.81	0.16
<b>Propionico (micromoli/g)</b>								
d81	68.9	91.5	83.5	86.3	8.4	0.03	0.15	0.18
d106	84.3	68.5	72.2	67	9.68	0.35	0.07	0.4
d231	67.7	70.5	46.9	72.7	13.2	0.22	0.82	0.18
<b>Butirrico (micromoli/g)</b>								
d81	96.9a	99.6a	61.41a	148.9b	15.8	0.89	<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
d106	129.3	113.1	120.2	79.8	15.6	0.64	0.39	0.38
d231	116	116	106	123	18.2	0.66	0.99	0.45
<b>Iso-buirrico (micromoli/g)</b>								
d81	12.3	12.3	9.6	14.4	2.35	0.99	0.47	0.24
d106	12.2	7.39	11.23	7.59	1.87	0.67	0.04	0.72
d231	12.6a	17.8a	11.3a	35.1b	2.89	0.72	0.15	<b>&lt;0.001</b>
<b>Valerico (micromoli/g)</b>								
d81	3.07	5.03	4.78	4.83	1.02	0.12	0.17	0.28
d106	3.64	2.81	2.83	1.72	0.79	0.41	0.32	0.8
d231	3.15	3.52	1.83	3.63	0.83	0.21	0.65	0.21
<b>Iso-valerico (micromoli/g)</b>								
d81	10.2	15	12.8	17.4	4.26	0.37	0.53	0.96
d106	13.7	11.6	13.2	8.1	2.09	0.87	0.41	0.4
d231	15.4a	16.9a	7.41a	24.29b	8.92	0.28	0.83	0.13

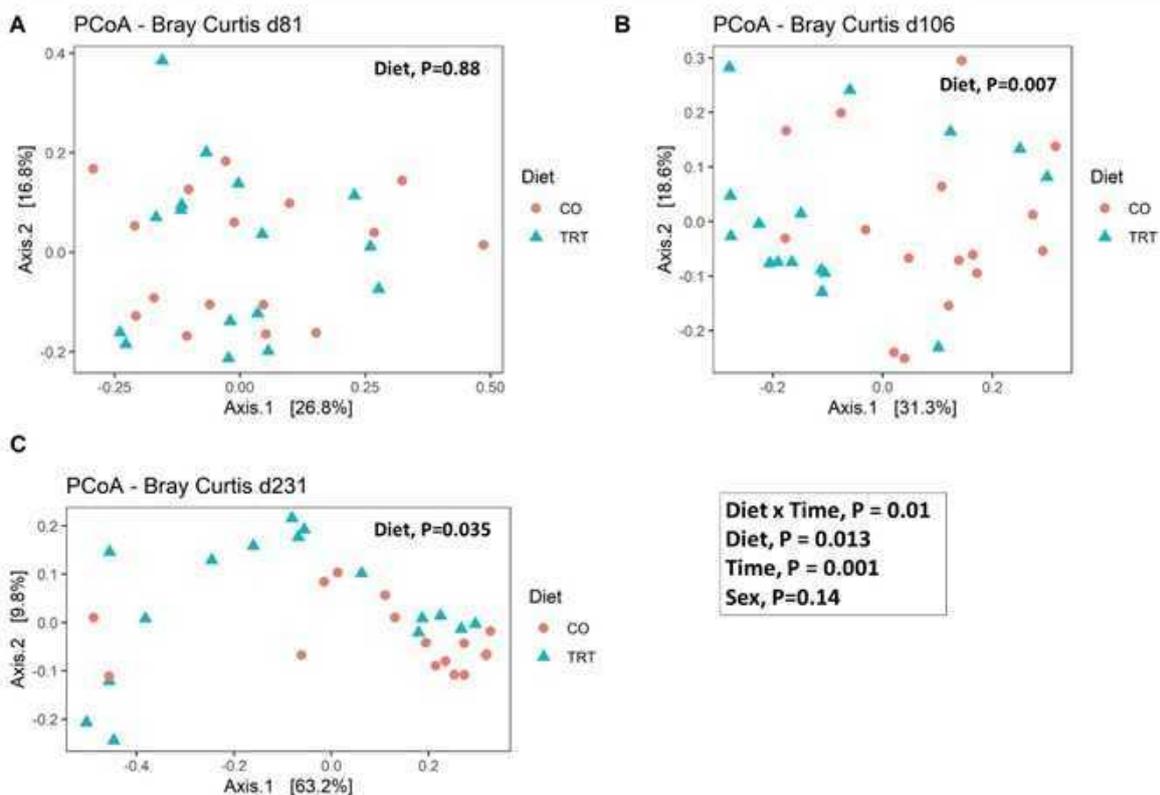
Dieta<sup>1</sup>: CO= dieta di controllo; TRT= dieta caratterizzata da basso tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina. Statistica e relative medie degli indici di comportamento e salute rilevate in allevamento (sito 2 e sito 3) sugli animali. P-value significativo se < 0.05.

**Tabella 9.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amilosio/amilopectina sulla concentrazione di ammoniaca e calprotectina nelle feci.

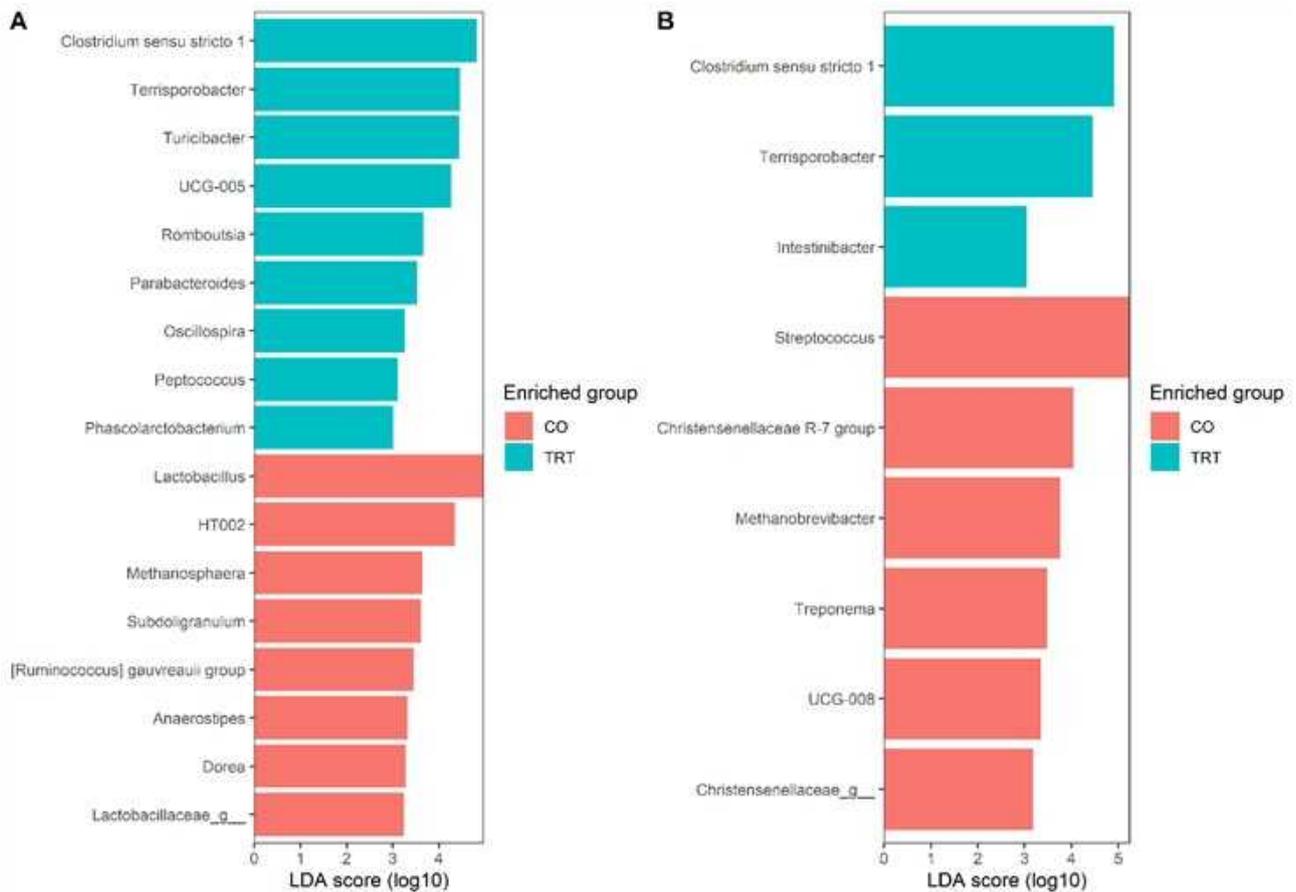
Parametro	Dieta * Sesso				SEM	P-value		
	F		M			Diet	Sesso	Dieta*Sesso
	CO	TRT	CO	TRT				
<b>NH3 (µl/g)</b>								
d81	18.4	28.8	24.9	25.1	5.31	0.33	0.1	0.27
d106	25.3	24.8	23.8	22.5	4.61	0.79	0.9	0.92
d231	26.5	24.4	18.7	25.3	4.44	0.17	0.69	0.27
<b>Calprotectina (ng/ml)</b>								
d81	1044	1047	1092	1125	45.6	0.96	0.36	0.70
d106	1043	1079	1074	1070	39.8	0.47	0.41	0.33
d231	991	1058	990	1059	37.1	0.16	0.14	<b>0.04</b>



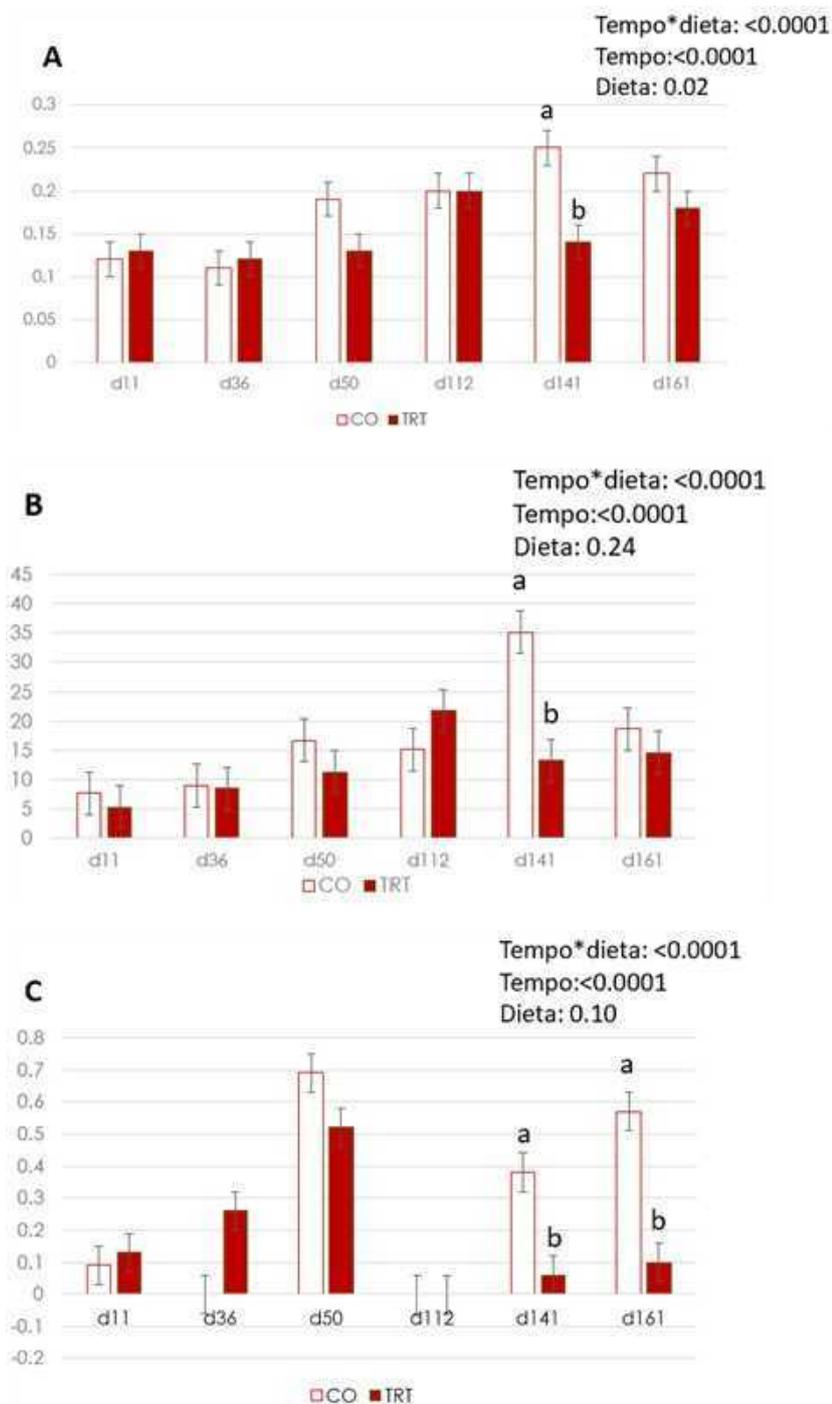
**Figure 1.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amiloso/amilopectina sugli indici di Chao1, Shannon and InvSimpson nelle feci di suini in accrescimento e ingrasso raccolte ai giorni 81, 106 e 231.



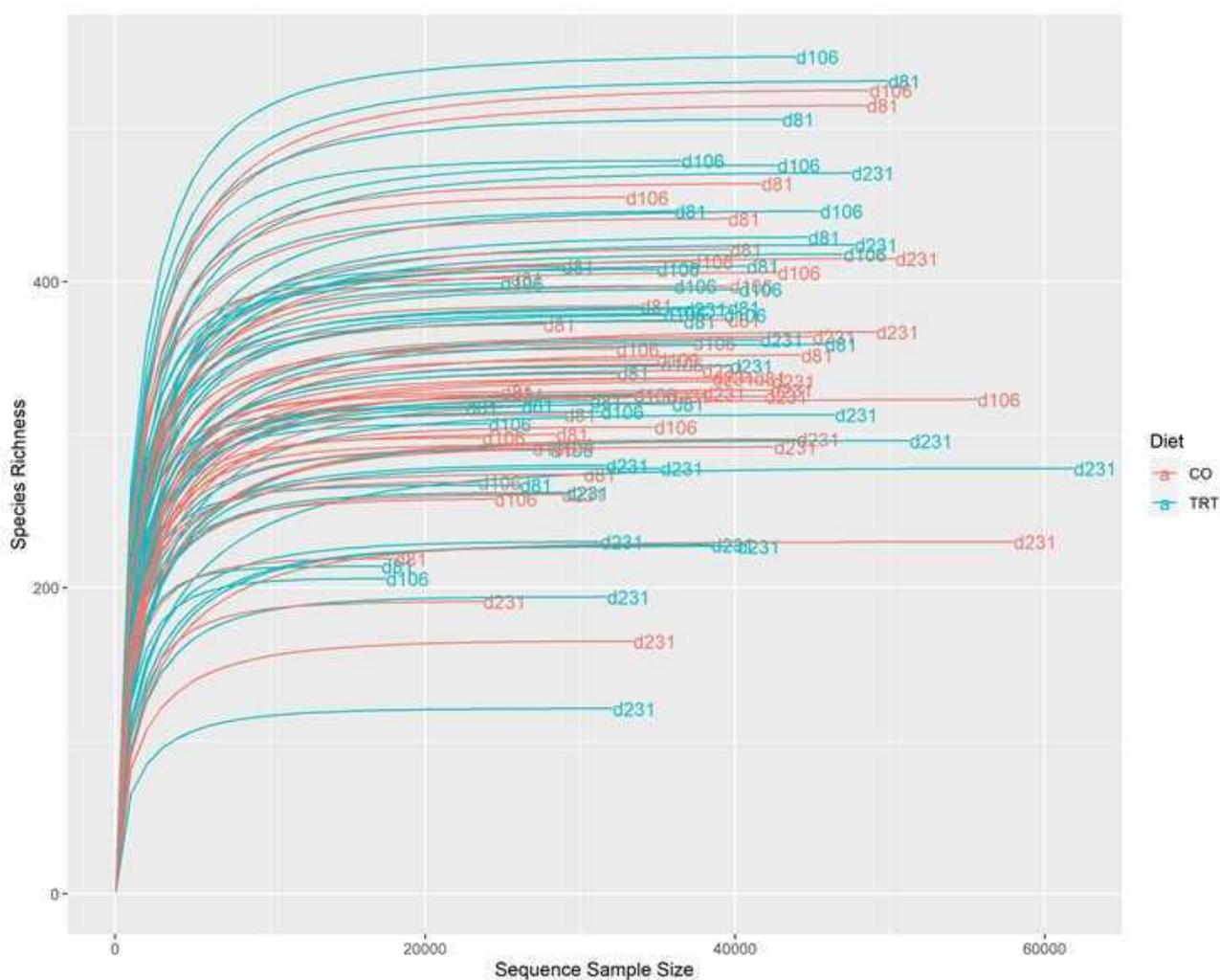
**Figura 2.** Grafico PCoA sulla matrice di distanza di Bray Curtis di campioni fecali di suini alimentati con una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amiloso/amilopectina e raccolti ai giorni 81, 106 e 231.



**Figura 3.** Grafico a barre dell'effect size dell'analisi discriminante lineare (LEfSe) a livello di genere per il microbiota fecale dei suini alimentati con una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amiloso/amilopectina e raccolti ai giorni 106 (A) e 231 (B). Le barre orizzontali rappresentano l'effect size per ciascun taxa. La lunghezza della barra rappresenta il punteggio dell'analisi discriminante (LDA). Il punteggio soglia dell'LDA per le caratteristiche discriminative è stato impostato a 3.0.



**Figure 4.** Effetto della somministrazione di una dieta a ridotto tenore proteico e rapporto amiloso/amilopectina su parametri ambientali quali concentrazione di anidride carbonica (A), ammoniaca (B) e idrogeno solforato (C) dei box di suini pesanti italiani in accrescimento e in finissaggio



**Figura supplementare 1.** Curva di rarefazione dei campioni fecali di suini risultanti dal sequenziamento delle regioni V3-V4 con la piattaforma MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, USA).



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

### **AZIONE 3**

**LESIONI DELLA CARCASSA E QUALITÀ DELLA CARNE IN SUINI  
ALIMENTATI CON DIETE A BASSO TENORE PROTEICO NELLA FASE DI  
INGRASSO Prof. Paolo Trevisi**

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



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

## Introduzione

L'allevamento del bestiame è tra i principali responsabili delle emissioni di gas serra globali nell'ambito delle produzioni alimentari. La carne suina costituisce oltre il 30% del consumo di carne mondiale (Soare & Chiurciu, 2017) per cui è necessario intervenire con miglioramenti e ottimizzazioni in tutte le fasi della filiera produttiva per ridurre l'impatto climatico del prodotto finito. Oltre ai fattori più o meno diretti legati all'efficienza degli animali e dell'allevamento, secondo diverse ricerche la produzione di mangimi risulta la principale responsabile degli oneri ambientali nella filiera suinicola. Ad esempio, con un contributo del 76%, la produzione di mangimi è il principale responsabile delle perdite totali di azoto (N) (Uwizeye et al., 2019). Questo perché per produrre ogni singolo ingrediente sono necessarie risorse ed energia e si utilizzano reti di trasporto su larga scala, aggiungendo un ulteriore impatto ambientale alla produzione suinicola (van der Werf et al., 2005). Pertanto, la produzione di mangimi produce oneri globalizzati al contrario della produzione zootecnica e della gestione dei rifiuti che generano oneri più localizzati.

Al fine di ridurre l'impatto ambientale associato alla formula impiegata nel contesto suinicolo, la comunità Europea sta favorendo la diffusione di politiche volte alla differenziazione delle fonti proteiche. Infatti, le principali strategie nutrizionali per ridurre le escrezioni, soprattutto azoto e ammoniaca, nei suini riguardano la possibilità di ridurre le quantità di elementi nutritivi quale la proteina nella dieta integrando gli aminoacidi limitanti con aminoacidi di sintesi ottenendo simili performance produttive (Verstegen & Aarnink, 2007) o la possibilità di sostituire fonti proteiche normalmente impiegate, come la farina di estrazione di soia, con fonti proteiche alternative, di origine locale, quindi più sostenibili.

Nella produzione suinicola, il contenuto di proteina grezza (PG) della dieta può essere ridotto quando il fabbisogno di aminoacidi (AA) essenziali e di azoto totale è soddisfatto. In generale le diete più diffuse per l'alimentazione suina sono composte da farina di estrazione di soia per coprire i fabbisogni proteici e un cereale per la copertura dei fabbisogni energetici; questa componente è di solito rappresentata dal mais. A causa del limitato contenuto di lisina nel mais, nelle tradizionali diete è stata inserita una quantità maggiore di farina di soia per soddisfare il fabbisogno di lisina degli animali, con conseguenti livelli elevati di PG. Queste diete ad alto contenuto proteico hanno portato a un eccesso di altri AA e all'escrezione di azoto in eccesso tramite feci e urine, con conseguente riduzione dell'efficienza di utilizzo dell'azoto (Wang et al., 2018). Inoltre, la fermentazione delle proteine nell'intestino può compromettere la salute intestinale. Dunque, le diete a basso contenuto proteico sono sempre più utilizzate, in quanto aumentano l'efficienza di conversione delle proteine e riducono l'escrezione di azoto (Minussi et al. 2023), inoltre, riducono i costi di alimentazione e promuovono la salute intestinale senza compromettere le prestazioni di crescita dei suini (Fan et al., 2017). A conferma di ciò, il più recente NRC (2012) ha eliminato le raccomandazioni per il fabbisogno di PG e le ha sostituite con un fabbisogno totale di azoto. Se il fabbisogno totale di azoto del NRC (2012) viene moltiplicato per il coefficiente di 6.25, il fabbisogno di PG è inferiore del 2%-4% rispetto al valore raccomandato dal NRC (1998). Ciò indica che lo studio delle diete a bassa PG ha fatto progressi e che tali progressi possono essere applicati alla produzione suina, grazie anche allo sviluppo della tecnologia industriale degli AA sintetici. A rafforzare il concetto è lo studio di Ogino e colleghi (2013), i quali hanno voluto confrontare l'impatto ambientale di mangimi convenzionali e mangimi a ridotto contenuto proteico. Una riduzione del 22% di proteina grezza ha determinato una diminuzione del 20% del potenziale di riscaldamento globale, riducendo



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

potenziale di acidificazione, potenziale di eutrofizzazione, dell'escrezione di azoto (-40%) e impatto ambientale complessivo anche se è stato registrato un aumento del consumo energetico.

Queste pratiche possono ritenersi idonee e applicabili se le performance produttive degli animali e la qualità delle carcasse non vengono modificate negativamente. A tal proposito diversi studi sono già stati condotti per valutare le implicazioni correlate alle diete a ridotto tenore proteico sebbene gli esiti siano discordanti, evidenziando la necessità di continuare a testare questa strategia al fine di renderla applicabile alla produzione. Ad esempio, Gallo e colleghi (2014) hanno confrontato un gruppo di controllo ricevente una dieta al 13.2% di PG con due gruppi sperimentali riceventi diete contenenti rispettivamente l'11.2 e il 10.8% di PG. I ricercatori hanno constatato che le diete sperimentali non hanno avuto effetti negativi rispetto al controllo né per quel che riguarda le performance di crescita (resa e incremento ponderale giornaliero) né le caratteristiche della carcassa, infatti lo spessore del lardo e del muscolo, così come la percentuale di massa magra e grassa delle carcasse non differiva significativamente dal controllo. I risultati dello studio si dimostravano coerenti a quello di Galassi e colleghi (2010) che somministrano una dieta formulata al 9.9% di PG, sempre nella fase di ingrasso, non avevano riscontrato differenze riguardanti il peso della carcassa, lo spessore del lardo, la percentuale di massa magra o il peso delle cosce dopo la rifilatura. Viceversa, Li e colleghi (2018) evidenziano maggiore grasso intramuscolare nelle carcasse dei suini alimentati con le diete a bassa proteina (10% e 13%) rispetto al controllo (16%). Questi ricercatori hanno anche rilevato un pH a 24 ore maggiore nella dieta al 10% di PG rispetto agli altri gruppi. In merito al pH, anche Wang e collaboratori (2022) nel loro studio hanno notato una discesa più lenta del pH per le carni dei suini alimentati con le diete al 14% e 12% di PG rispetto al controllo (16%). Talvolta anche la disponibilità di energia determinata dalla formula può influenzare la resa delle diete a ridotto tenore proteico. Questo fenomeno è dovuto alla variazione dell'assorbimento degli amminoacidi in base alla fonte somministrata. È da notare che un adeguato apporto bilanciato di AA e sostanze ad alto rendimento energetico è essenziale per la sintesi delle proteine muscolari. Considerando che l'amido costituisce la principale fonte di glucosio nelle diete suinicole, l'introduzione di amidi più facilmente digeribili, caratterizzati da un rapporto più basso tra amilosio e amilopectina, può mitigare la discrepanza tra la disponibilità di aminoacidi sintetici e glucosio (Zhou et al., 2021). Un esempio di fonte di amido facilmente digeribile è rappresentato dalla varietà di mais Waxy, la cui composizione amilacea è prevalentemente costituita da amilopectina (Perez & Aumaitre, 1979).

## Obiettivo

Valutare l'effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico associato all'impiego di amido a basso rapporto amilosio/amilopectina sulle lesioni a carico della carcassa, le caratteristiche e la qualità della carne del suino pesante.

## Materiali e metodi

### Animali, partite in prova e campionamenti

In continuità con l'Azione 2, raggiunto il peso di macellazione, i suini sono stati trasportati e macellati presso il macello MecCarni di Marcaria (MN). Gli animali rimasti in prova e inviati al macello erano 685 per il gruppo di controllo (CO) e 677 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 ed infine il peso vivo medio degli animali registrato dal camion.

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

Inoltre, un sottogruppo di 20 animali/gruppo dai quali durante l'Azione 3 erano stati prelevati campioni di feci, è stato identificato mediante un cerchio disegnato attorno al numero progressivo sulla carcassa (**Immagine 1**) e seguito durante il processo di macellazione al fine di poter raccogliere per ciascuna carcassa tre campioni di muscolo (*spalla*, *Biceps femoris* e *semimembranosus*) e lardo. Tali animali appartenevano ai lotti 50033 e 50035, rispettivamente CO e TRT.

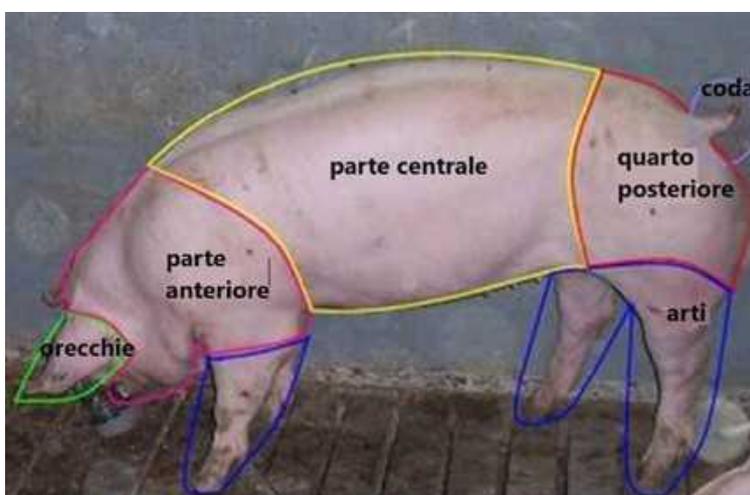


**Immagine 1.** Rappresentazione del metodo impiegato per il riconoscimento individuale delle carcasse dei suini contraddistinti da marca auricolare.

I parametri valutati sui muscoli comprendono le principali caratteristiche tecnologiche tra cui il pH a 45 minuti e 24 ore dalla macellazione (pH-metro ad infissione HI98163, Hanna Instruments, Padova, Italy), il colore, misurato mediante colorimetro (CR-400 Konica Minolta, Milano, Italy) basato sul sistema sistema CIE L\*a\*b\*; la capacità di ritenzione idrica durante la conservazione refrigerata (*drip loss*) e per cottura (*cooking loss*), lo sforzo di taglio mediante texture analyser e la suscettibilità all'ossidazione (test del TBARS). A completazione della valutazione delle caratteristiche tecnologiche è stato svolto l'acidogramma, finalizzato alla valutazione del contenuto lipidico ed al profilo degli acidi grassi contenuti nei campioni di muscolo e nel lardo per valutare aspetti quali tenerezza, aroma e succosità della carne. In aggiunta a queste analisi svolte dal personale di Unibo, Gesco con il proprio personale interno, ha provveduto ad utilizzare una quota dei tagli di "spalla" e "pancia" derivanti da entrambi i gruppi di animali oggetto di prova per la preparazione di prodotti elaborati a marchio (polpette e salsicce), sottoposti in seguito ad un test sensoriale comparativo interno all'azienda. Parallelamente, la Funzione Marketing ha condotto alcuni sondaggi di gradimento nei confronti dei clienti Gesco e del consumatore finale per indagarne la sensibilità e l'eventuale propensione all'acquisto di prodotti elaborati e riportanti in etichetta dichiarazioni di impiego di carni derivanti da animali allevati con elevati standard di benessere ("a coda integra"), alimentati con mangimi a ridotto impatto ambientale

## Valutazione di lesioni delle carcasse

Per valutare l'efficacia delle strategie messe in atto nella fase di allevamento, sulla linea di macellazione i tecnici Unibo hanno effettuato alcuni rilevamenti legati al benessere degli animali. Per tutte le partite è stato assegnato un punteggio per le lesioni secondo il protocollo Welfare Quality®. Quindi, ciascuna carcassa è stata immaginariamente divisa in sei aree come mostra l'**Immagine 2** e per ciascuna delle sei aree è stato assegnato un punteggio da 0 a 2 per classificare il grado di lesioni.



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

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 considerasse 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 stato possibile registrare su tutte le carcasse in prova i seguenti parametri: "Peso Carcassa CE", "Peso Freddo", percentuale di carne magra, spessore in millimetri del grasso e spessore in millimetri del muscolo. In particolare, il "Peso Freddo" è invece ottenuto mediante la sottrazione del 2% di peso al peso della carcassa rilevato al macello (peso caldo).

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 presente direttamente sulla linea di macellazione e 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.

### 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.

### 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. Nessuna di queste ha mostrato differenze statisticamente significative correlate alla dieta ( $P > 0.05$ ), ad eccezione del busto; quindi,



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

della parte centrale della carcassa dove le analisi mostrano una tendenza ad una maggiore frequenza e/o gravità delle lesioni a carico delle carcasse del gruppo CO ( $P=0.08$ ).

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 ( $P>0.05$ ) il peso freddo delle carcasse, né la percentuale di carnosità delle stesse, né la percentuale di carcasse ammesse al circuito DOP sulla base della classificazione SEUROP e neanche la percentuale di "grossoni", ovvero di animali con peso freddo superiore ai 168 kg. I risultati mostrano però una tendenza delle carcasse del gruppo TRT ad un maggiore spessore del grasso rispetto alle carcasse CO ( $P=0.08$ ), le quali al contrario tendono ad avere muscolo di spessore maggiore ( $P=0.09$ ).

La **Tabella 4** mostra risultati dell'effetto della dieta sulle caratteristiche tecnologiche e la qualità della carne riferita al sottogruppo di 20 animali per trattamento in funzione della dieta. Il sesso è stato testato per tutti i parametri senza risultare significativo, al contrario della dieta che ha influenzato significativamente il drip loss dei campioni di spalla ( $P=0.01$ ) determinando una perdita da sgocciolamento maggiore nel gruppo TRT. Sempre sui campioni di spalla la dieta ha teso a influenzare il valore di  $a^*$ , anche in questo caso maggiore nel gruppo TRT ( $P=0.08$ ). Nel caso dei campioni di muscolo prelevati dalla coscia, sul bicipite femorale si è vista l'influenza della dieta sul pH ultimo ( $P=0.05$ ), il quale era maggiore per il gruppo TRT, e una tendenza della dieta ad influenzare la luminosità ( $P=0.06$ ) e lo sforzo di taglio ( $P=0.06$ ) dei campioni di muscolo. Per il muscolo semimembranoso della coscia la dieta ha influenzato significativamente drip loss ( $P=0.03$ ) e cooking loss ( $P=0.04$ ), che sono risultati entrambi maggiori nel gruppo TRT. Gli altri parametri non hanno subito variazioni significative legate al trattamento alimentare somministrato o al sesso.

## Bibliografia

- Fan, P., Liu, P., Song, P., Chen, X., Ma, X. (2017). Moderate dietary protein restriction alters the composition of gut microbiota and improves ileal barrier function in adult pig model. *Sci Rep* 7, 43412. <https://doi.org/10.1038/srep43412>
- Galassi, G., Colombini, S., Malagutti, L., Crovetto, G.M., Rapetti, L. (2010) Effects of high fibre and low protein diets on performance, digestibility, nitrogen excretion and ammonia emission in the heavy pig. *Animal Feed Science and Technology* 161(3-4), 140-148. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.08.009>
- Gallo, L., Montà, G. D., 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>
- Li, Y.H., Li, F.N., Li, F.N., Duan, Y.H., Guo, Q.P., Wen, C.Y., Wang, W.L., Huang, X.G., Yin, Y.L. (2018) Low-protein diet improves meat quality of growing and finishing pigs through changing lipid metabolism, fiber characteristics, and free amino acid profile of the muscle. *Journal of animal science*, 96 (8), 3221-3232. <https://doi.org/10.1093/jas/sky116>
- Minussi, I., Gerrits, W.J.J., Jansman, A.J.M., Gerritsen, R., Lambert, W., Zonderland, J.J., Bolhuis, J.E. (2023). Amino acid supplementation counteracts negative effects of low protein diets on tail biting in pigs more than extra environmental enrichment. *Sci Rep* 13, 19268. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45704-0>
- National Research Council (NRC). (1998). *Nutrient requirements of swine*. Washington DC, USA: National Academy Press.
- National Research Council (NRC). (2012). *Nutrient requirements of swine*. Washington DC, USA: National Academy Press.
- 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>
- Perez, J. M., Aumaitre, A. (1979). Waxy versus regular maize: Energy value for growing pigs and utilization in piglet diets. *Animal Feed Science and Technology*, 4(2), 109-115. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(79\)90035-X](https://doi.org/10.1016/0377-8401(79)90035-X)
- Soare, E., Chiurciu, I. (2017). Study on the pork market worldwide. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* Vol. 17, Issue 4, 2017
- 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>

- van der Werf, H.M.G., Petit, J., Sanders, J. (2005). The environmental impacts of the production of concentrated feed: the case of pig feed in Bretagne. *Agricultural Systems* 83, 153–177. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2004.03.005>
- Verstegen, M.W.A., Aarnink, A.J.A. (2007). Nutrition, key factor to reduce environmental load from pig production. *Livestock science*, 109, 194-203. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.112>
- Wang, D., Chen, G., Chai, M., Shi, C., Geng, Y., Che, Y., Li, Y., Liu, S., Gao, Y., Hou, H. (2022). Effects of dietary protein levels on production performance, meat quality and flavor of fattening pigs. *Frontiers in nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.910519>
- Wang, Y., Zhou, J., Wang, G., Cai, S., Zeng, X., Qiao, S. (2018). Advances in low-protein diets for swine. *J Anim Sci Biotechnol* 9, 60. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0276-7>
- Zhou, J., Wang, L., Zhou, J., Zeng, X., & Qiao, S. (2021). Effects of using cassava as an amylopectin source in low protein diets on growth performance, nitrogen efficiency, and postprandial changes in plasma glucose and related hormones concentrations of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 99(12), skab332. <https://doi.org/10.1093/jas/skab332>

## 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.

N° lotto	N° di animali	Gruppo sperimentale	Data della macellazione	Peso vivo medio (Kg)
49043	130	TRT	05/12/2023	175.08
49045	106	TRT	05/12/2023	176.32
49046	129	TRT	05/12/2023	178.08
49037	121	CO	05/12/2023	177.70
49040	122	CO	05/12/2023	180.00
49042	121	CO	05/12/2023	178.20
50031	124	TRT	12/12/2023	187.12
50032	126	CO	12/12/2023	182.62
50038	63	TRT	12/12/2023	184.29
50039	65	CO	12/12/2023	198.77
50035	125	TRT	12/12/2023	194.16
50033	130	CO	12/12/2023	193.62

**Tabella 2.** Effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico associato all'impiego di amido a basso rapporto amilosio/amilopectina sulle lesioni a carico della carcassa. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		Dieta
LSI coda	43.70	47.40	2.18	0.26
LSI arti	0.79	1.24	0.35	0.39
LSI quarto posteriore	2.79	2.41	0.52	0.62
LSI busto	7.17	4.71	0.88	0.08
LSI busto (craniale)	6.43	4.22	1.34	0.27
LSI orecchie	7.38	9.62	1.47	0.31

**Tabella 3.** Effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico associato all'impiego di amido a basso rapporto amilosio/amilopectina sui parametri delle carcasse. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	P-value
	CO	TRT		Dieta
n° carcasse	685	677	-	-
% carcasse DOP*	98.80	99.10	0.42	0.64
% Grossoni**	11.15	9.82	3.84	0.81
Peso freddo	150.00	149.00	0.47	0.25
Grasso (mm)	27.90	28.40	0.21	0.08
Muscolo (mm)	71.90	71.10	0.32	0.09
% carnosità	53.20	52.90	0.28	0.54

\*Percentuale di carcasse appartenenti alle classi E, U, R, O della classificazione SEUROP, quindi ammesse alle produzioni DOP.

\*\*Percentuale di animali il cui peso freddo supera il 168 Kg.

**Tabella 4.** Effetto di un piano alimentare a ridotto tenore proteico associato all'impiego di amido a basso rapporto amiloso/amilopectina sulle caratteristiche tecnologiche e le analisi di qualità della carne di muscolo riferita al sottogruppo di 20 animali per trattamento in funzione della dieta. P-value significativo se < 0.05.

Parametro	Dieta		SEM	P-value Dieta
	CO	TRT		
<b>Spalla</b>				
pH 45'	5.88	5.78	0.07	0.32
L* 45'	42.80	41.10	0.74	0.11
a* 45'	10.70	12.10	0.51	0.08
b* 45'	3.93	4.32	0.22	0.21
pH 24h	5.91	5.96	0.04	0.46
L*24h	44.10	43.10	0.66	0.26
a* 24h	15.90	16.60	0.36	0.17
b* 24h	7.49	7.49	0.32	0.99
Drip loss (%)	1.40	1.56	0.04	0.01
Cooking loss (%)	27.40	26.80	0.56	0.49
MDA	0.76	0.84	0.06	0.34
<b>Bicipite femorale - Coscia</b>				
pH 24h	5.42	5.51	0.03	0.05
L*24h	50.80	54.90	1.46	0.06
a* 24h	11.50	12.00	1.22	0.74
b* 24h	7.38	8.96	0.68	0.13
Drip loss (%)	1.60	1.85	0.22	0.45
Cooking loss (%)	37.70	37.50	0.41	0.64
Sforzo di taglio	4.75	5.52	0.25	0.06
MDA	0.75	0.70	0.04	0.30
<b>Semimembranoso – Coscia</b>				
pH 24h	5.38	5.33	0.02	0.14
L*24h	51.50	53.20	0.97	0.25
a* 24h	11.20	12.60	0.75	0.23
b* 24h	7.14	8.68	0.64	0.12
Drip loss (%)	1.54	1.95	0.11	0.03
Cooking loss (%)	32.10	35.40	0.98	0.04
Sforzo di taglio	2.85	3.75	0.66	0.36
MDA	0.80	0.79	0.07	0.95



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

## **AZIONE 4**

# **VALUTAZIONE DELL'IMPIEGO DI UN ENZIMA DI RECENTE INTRODUZIONE SUL MERCATO, IMPIEGATO NEI MANGIMI DA SVEZZAMENTO E INCIDENZA SULLE PERFORMANCE E LA SALUBRITA' INTESTINALE DEI SUINETTI**

**Prof. Paolo Trevisi**

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



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

## Introduzione

Il periodo immediatamente successivo allo svezzamento è una delle fasi più stressanti della vita del suino e durante questo periodo i suinetti sono solitamente esposti a fattori di stress ambientali, sociali e psicologici che hanno effetti diretti o indiretti sulla salute intestinale e sulle prestazioni di crescita complessive. Tra i vari additivi impiegati per migliorare la salute intestinale e le performance di crescita, la muramidasi microbica (Balancius™, DSM-firmenich) ha mostrato risultati incoraggianti nei polli, ma non ci sono dati al momento sul suino. La muramidasi, conosciuta anche come lisozima, agisce scindendo i legami glicosidici dei peptidoglicani, i principali polimeri strutturali presenti nelle pareti cellulari batteriche. Questo enzima attacca e degrada i peptidoglicani presenti nelle pareti cellulari dei batteri, rimuovendo i frammenti cellulari batterici che causano una costante attivazione del sistema immunitario e un aumento del turnover proteico. Ciò si traduce nella produzione di un maggior numero di cellule del sistema immunitario, immunoglobuline e proteine di fase acuta. Questo incremento del turnover proteico porta a un aumento del dispendio energetico del 10-15% e del fabbisogno proteico del 7-10%, influenzando negativamente l'efficienza energetica e nutrizionale degli animali.

## Obiettivo

L'obiettivo dello studio è valutare l'efficacia della muramidasi microbica (Balancius™, DSM-firmenich), al dosaggio massimo consigliato (65.000 LSU/kg), sulla performance di crescita e sulla salute intestinale di suinetti durante la fase di svezzamento

## Materiale E Metodi

Il Protocollo di studio è stato approvato dal Comitato per il Benessere Animale dell'Università di Bologna Prot. n. 318130 del 31/10/2023.

La prova si è svolta nel periodo 10 Gennaio 2024 – 23 Febbraio 2024. Allo svezzamento (26±2 giorni di vita), 96 suinetti sono stati trasferiti presso la struttura zootecnica dell'Università di Bologna. All'arrivo (d0), i suinetti sono stati collocati in 32 gabbie svezzamento (3 suinetti per gabbia) con pavimento grigliato. Il peso individuale dei suinetti è stato registrato e gli animali sono stati suddivisi in due gruppi omogenei per peso e bilanciati per nidiata di origine. Ogni gruppo era costituito da 16 unità sperimentali (box) ed è stato assegnato a una delle due diete sperimentali:

- 1) Gruppo di controllo (CTR), alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44);
- 2) Gruppo Trattato (TRT), alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta di muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13% per apportare 65,000 LSU/kg di mangime (massimo apporto come da riferimento legislativo, EFSA, 2021) (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44);

## Rilievi e campionamenti

I suinetti sono stati pesati individualmente al d0 (giorno dello svezzamento) successivamente con cadenza settimanale (d7, d14, d21, d28, d35, d44). Il consumo di alimento ed il residuo sono stati misurati settimanalmente al fine di calcolare l'indice di conversione alimentare (ICA). Lo stato di salute è stato monitorato giornalmente e la consistenza fecale è stata valutata applicando una scala a 5 punti (1 feci dure – 5 feci acquose), da parte di personale esperto. Al giorno 9 ed al giorno 28 da un sotto campione di 16 suinetti egualmente distribuiti nei 2 gruppi (32 suini in totale), è stato effettuato un tampone rettale per verificare l'effetto delle diete sul microbiota intestinale, la concentrazione in acidi grassi volatili, ammoniaca e la calprotectina fecale. Lo schema sperimentale della prova è stato sintetizzato nella **Figura 1**.

## Analisi AGV e Ammoniaca fecale

L'analisi degli AGV (acetato, propionato, isobutirato, butirato, valerato, isovalerato) e dell'acido lattico dei campioni di fecali è stata effettuata tramite HPLC secondo le seguenti procedure: 5 g di feci sono stati diluiti con 25 mL di soluzione acquosa di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N e omogeneizzati per 2 min con UltraTurrax (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germania). La miscela è stata centrifugata (5.000 × g per 15 min a 4°C) per separare la fase liquida dai residui solidi e successivamente microfiltrata (SLMV033RS, 0.45-µm Millex-HV, Merck-Millipore, Billerica, MA). Il campione ottenuto è stato iniettato direttamente nell'apparecchio HPLC utilizzando una colonna di esclusione ionica Aminex 85 HPX-87 H (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 220 nm. Le analisi sono state effettuate applicando un'eluzione isocratica (flux 0,6 mL/min) con una soluzione di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,008 N come fase mobile; il loop di iniezione era di 20 µL. Gli AGV individuali e l'acido lattico sono stati identificati utilizzando una soluzione di 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N (69775, 338826, 402907, B103500, 58360, 75054, 129542, rispettivamente; Sigma-Aldrich, Milano, Italia). La quantificazione è stata effettuata utilizzando una curva di calibrazione esterna basata sugli standard descritti sopra (Sandri et al., 2017)

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 tramite vortex, sono stati centrifugati per 10 minuti a 7000 rpm a 4 °C. L'ammoniaca fecale è stata determinata tramite un test colorimetrico enzimatico sul surnatante, seguendo il protocollo del produttore (Urea/BUN-Color; BioSystems S.A., Barcellona, Spagna), e i dati sono stati espressi in µmol/g di feci.

## Analisi Calprotectina

La concentrazione di calprotectina (ng/ml) fecale è stata analizzata utilizzando il kit ELISA MBS033848 (Mybiosource, San Diego, CA, USA) seguendo le indicazioni del fornitore. Prima dell'analisi i campioni fecali sono stati diluiti 1:70 in PBS. I campioni sono stati analizzati in duplicato. L'assorbanza dei campioni è stata letta a 450 ng/ml utilizzando il lettore multiplacchetta Multiskan FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific). La concentrazione di calprotectina è stata calcolata utilizzando una curva parametrica a quattro punti.



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

### Analisi Profilo Microbico

L'estrazione del DNA batterico è stata eseguita su un totale di 64 campioni fecali utilizzando il FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Santa Ana, Ca, USA) seguendo le istruzioni del produttore. La concentrazione e la purezza del DNA (rapporti di assorbanza 260/280 e 260/230, rispettivamente) del DNA isolato sono state controllate mediante spettrofotometria NanoDrop (Fisher Scientific, 13 Schwerte, Germania). La regione V3-V4 del gene 16S rRNA (~ 460 bp) è stata amplificata; gli ampliconi sono stati prodotti utilizzando i primer universali Pro341F: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACCTACGGGNBGCASCAG-3' e Pro805R: 5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGTATCTAATCC-3' (Takahashi et al., 2014) utilizzando Platinum™ Taq DNA Polymerase High Fidelity (Termo Fisher Scientific, Italia) il sequenziamento è stato effettuato su piattaforma Illumina MiSeq 300 × 2 bp. La formazione delle library e il sequenziamento del gene 16S rRNA sono stati eseguiti con MiSeq® Reagent Kit V3-V4 sulla piattaforma MiSeq-Illumina®. L'analisi del microbiota è stata eseguita utilizzando la pipeline DADA2 (Callahan et al., 2016) e la tassonomia è stata assegnata utilizzando Silva Database (release 138.1) come riferimento (Quast et al., 2013).

### Analisi Statistiche

Per l'analisi statistica dei dati di peso e incremento ponderale giornaliero (IPG), AGV, NH3 e Calprotectina è stato utilizzato un modello lineare che considerava la dieta come fattore fisso e il box come fattore random. Per l'ingestione alimentare e l'ICA, è stato utilizzato il box come unità sperimentale e i dati sono stati adattati con un modello lineare che comprendeva la dieta come fattore fisso. Per i dati riguardanti il numero di trattamenti antibiotici l'effetto è stato testato utilizzando un test del chi quadro.

Per l'analisi del profilo microbico i dati di abbondanza sono stati normalizzati utilizzando la trasformazione 'clr'. Per le misure di alpha diversità sono stati utilizzati dei modelli lineari per ciascun tempo di campionamento (d9 o d28) che includevano la profondità di sequenziamento e la dieta come fattori nel modello. Per la beta diversità, è stata creata una matrice di distanza basata sulla distanza Euclidea dei valori trasformati (Distanza Aitchison), le differenze sono state testate utilizzando un modello ANOVA permutazionale (Adonis), per ciascun tempo di campionamento (d9 o d28), considerando il gruppo come fattore sperimentale, mentre la matrice di distanza è stata rappresentata in un grafico bidimensionale basato sull'analisi Principal Coordinates Analysis (PCoA). Infine, l'analisi dei taxa differenzialmente espressi è stata effettuata aggregando i dati di abbondanza a livello di genere utilizzando l'analisi discriminante lineare con stima della dimensione dell'effetto incluse nel pacchetto LEfSe (Segata et al., 2011). Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando le funzioni incluse nei pacchetti "car", "lsmmeans", "vegan" e "phyloseq" all'interno del software R v4.1.1.

L'effetto generale della dieta è stato considerato significativo a  $P \leq 0.05$  e tendente alla significatività a  $0.05 < P < 0.10$

## Risultati

### Salute e performance zootecniche

Durante il periodo di prova, si è registrata una mortalità del 10.4% (10 su 96), e l'analisi autoptica ha evidenziato delle lesioni che hanno portato ad polmonite acuta causata da *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP). I suinetti con sintomi riconducibili all'infezione da APP sono stati trattati individualmente con Synulox sospensione iniettabile (140 mg/ml di amoxicillina e 35 mg/ml di acido clavulanico, 1 ml/20 kg di peso) per 5 giorni. I risultati relativi al numero cumulativo di suinetti trattati con antibiotico sono riportati in **Tabella 1**. È da notare che il Gruppo TRT ha ricevuto un numero significativamente inferiore di trattamenti individuali rispetto al gruppo CTR nei periodi d14-d21 ( $P = 0.03$ ) e d21-d28 ( $P < 0.01$ ). Nel periodo d35-d44 tutti i suinetti in prova sono stati trattati individualmente con Synulox. Per quanto riguarda i dati relativi alla frequenza di diarrea (score di consistenza fecale  $>3$ ), essi sono riportati in **Tabella 2**; come si può osservare non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi nei periodi d0-d7 e d7-d14. In seguito al d14 non vi è stata nessuna manifestazione di diarrea.

I risultati delle performance di crescita individuali in termini di peso vivo (PV) e incremento ponderale giornaliero (IPG) durante l'intero periodo sperimentale sono riportati in **Tabella 3**. In generale, per il PV non sono state evidenziate differenze significative tra i due gruppi al d7, d14, d21 e d35. Tuttavia, i suinetti del gruppo TRT hanno mostrato un PV significativamente maggiore rispetto a quelli del gruppo CTR al d44 ( $P = 0.05$ ) ed una tendenza al d28 ( $P = 0.07$ ). Inoltre, il gruppo TRT ha presentato un IPG maggiore rispetto al gruppo CTR nei periodi d7-d14 ( $P = 0.02$ ), d14-d21 ( $P < 0.01$ ), d0-d21 ( $P = 0.02$ ), d21-d28 ( $P = 0.01$ ), d14-d28 ( $<0.01$ ), d0-d28 ( $P < 0.01$ ), d0-d35 ( $P = 0.03$ ) e d0-d44 ( $P = 0.02$ ) mentre si è osservata una tendenza nel periodo d0-d14 ( $P = 0.07$ ).

I risultati sull'ingestione alimentare e sull'ICA sono riportati in **Tabella 4**. L'ingestione alimentare è risultata significativamente superiore nel gruppo TRT rispetto al gruppo CTR nei periodi d21-d28 ( $P = 0.03$ ), d14-d28 ( $P = 0.04$ ), d0-d28 ( $P = 0.04$ ), d0-d35 ( $P = 0.05$ ) e d0-d44 ( $P = 0.05$ ), mentre non sono state riscontrate differenze significative per gli altri periodi. L'ICA è stato tendenzialmente inferiore nel gruppo TRT rispetto al gruppo CTR nel periodo d7-d14 ( $P = 0.05$ ) e nel periodo d0-d21 ( $P = 0.08$ ), non sono state riscontrate differenze significative per gli altri periodi.

I risultati sulla concentrazione di  $\text{NH}_3$ , Calprotectina e AGV nelle sono riportati rispettivamente in **Tabella 5** e **Tabella 6**, non sono state riscontrate differenze significative tra i due gruppi al d9 e al d28 per tutti parametri.

### Profilo Microbico fecale

L'analisi del profilo microbico fecale è stata effettuata su un totale di 64 campioni. Il sequenziamento ha prodotto una media di 50,886 sequenze per campione, e dopo vari passaggi di pulizia, una media di 31,103 sequenze per campione è stata mantenuta per le analisi successive. Le sequenze ottenute sono state attribuite a un totale di 3,134 ASVs (Amplicon sequence variants). Riguardo alla classificazione tassonomica, i taxa predominanti erano rappresentati dai batteri del phylum Firmicutes ( $78.5 \pm 6.7\%$ ) e Bacteroidota ( $13.9 \pm 6.7\%$ ). Tra le famiglie, le più rappresentate erano Lachnospiraceae ( $18.1 \pm 9.8\%$ ), Clostridiaceae ( $13.0 \pm 12.5\%$ ), Oscillospiraceae ( $7.3 \pm 3.5\%$ ) e Ruminococcaceae ( $6.6 \pm 4.3\%$ ). A livello di genere, i taxa più

abbondanti includevano *Clostridium sensu stricto* 1 ( $12.9 \pm 12.5\%$ ), *Blautia* ( $5.36 \pm 5.04\%$ ), *Terrisporobacter* ( $5.0 \pm 8.2\%$ ) e *Lactobacillus* ( $4.9 \pm 8.7\%$ ).

L'analisi sugli indici di alpha diversità ha mostrato che al d7 i suini del gruppo TRT presentavano una diversità inferiore misurata tramite l'indice Chao1 rispetto al gruppo CO ( $P = 0.02$ ) (**Figura 2**), mentre non sono state rilevate differenze significative per gli altri indici al d7. Al d28, non è stata evidenziata nessuna differenza significativa.

Per quanto riguarda l'indice di beta diversità, sia al d7 ( $R^2 = 0.05$ ,  $P = 0.002$ ) che al giorno d28 ( $R^2 = 0.05$ ,  $P = 0.05$ ) è stata evidenziata una differenza significativa, indicando che la struttura microbica generale è significativamente diversa tra i due gruppi sperimentali, come si evince anche dalla netta separazione dei campioni nei due gruppi CO e TRT nel grafico PcoA (**Figura 3**).

Per identificare i taxa che hanno maggiormente contribuito a queste differenze, l'analisi LEfSe (**Figura 4**) è stata condotta a livello di genere. Tra i taxa identificati al d9, diversi generi hanno mostrato differenze significative; in particolare, nel gruppo CO, *Colidextribacter* ( $LDA = 3.73$ ,  $P < 0.01$ ), *Turicibacter* ( $LDA = 3.66$ ,  $P < 0.01$ ), Lachnospiraceae UCG-010 ( $LDA = 3.35$ ,  $P < 0.01$ ), p-1088-a5 gut group appartenente alla famiglia delle Pirellulaceae ( $LDA = 3.23$ ,  $P < 0.01$ ), *Mucispirillum* ( $LDA = 3.20$ ,  $P < 0.01$ ), *Fibrobacter* ( $LDA = 3.19$ ,  $P < 0.001$ ) e Defluviitaleaceae UCG-011 ( $LDA = 3.07$ ,  $P < 0.01$ ) sono stati identificati come significativamente più abbondanti rispetto al gruppo TRT, dove solo *Peptococcus* è stato identificato come maggiormente abbondante ( $LDA = 3.24$ ,  $P < 0.01$ ). Tra i taxa identificati al d28, *Turicibacter* ( $LDA = 3.86$ ,  $P < 0.0001$ ), *Colidextribacter* ( $LDA = 3.70$ ,  $P = 0.008$ ), e un genere non coltivabile della famiglia Peptococcaceae erano maggiormente abbondanti nel gruppo CO ( $LDA = 3.45$ ,  $P = 0.002$ ). Inoltre, sia *Peptococcus* ( $LDA = 3.56$ ,  $P = 0.002$ ) che *Negativibacillus* erano maggiormente abbondanti nel gruppo TRT ( $LDA = 3.42$ ,  $P = 0.009$ ).

## Discussione

I risultati del nostro studio confermano l'efficacia della muramidasi microbica (Balancius™), al dosaggio massimo consigliato ( $65.000$  LSU/kg), nel migliorare le performance di crescita dei suini svezzati. In particolare, l'incremento ponderale giornaliero (IPG) e l'indice di conversione alimentare (ICA) migliorati nelle prime settimane post-svezzamento evidenziano l'efficacia di questo additivo, in linea con studi precedenti condotti sui broiler, data la mancanza di studi sulla specie suina che coinvolgono l'uso di questo additivo.

Nello studio di Brugaletta et al. (2022) sono state valutate due concentrazioni di MUR: una a basso dosaggio ( $25.000$  LSU(F)/kg) e una al massimo dosaggio consigliato per i broiler ( $45.000$  LSU(F)/kg). I risultati hanno evidenziato come il gruppo ad alto dosaggio avesse un maggiore consumo di mangime, un peso corporeo superiore e un miglior ICA rispetto al gruppo di controllo, con il gruppo a basso dosaggio che mostrava prestazioni intermedie. Inoltre, Goes et al., 2022 hanno riportato un miglioramento dell'ICA e dell'IPG nei broiler alimentati con una dieta arricchita con muramidasi ( $35.000$  LSU(F)/kg), dove nei polli era stata indotta un'inflammatione intestinale utilizzando diete ricche in carboidrati NPS.

Studi precedenti evidenziano come il meccanismo d'azione della muramidasi sembri essere legato all'idrolisi dei peptidoglicani nei detriti cellulari batterici. Questo processo riduce lo stimolo infiammatorio a livello della mucosa intestinale senza alterare significativamente il microbiota. La riduzione dello stimolo infiammatorio



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

può contribuire a un miglioramento della salute intestinale, permettendo una migliore assimilazione dei nutrienti e aumentando così la digeribilità dell'alimento (Brugaletta et al., 2022)

Nel nostro studio non è stata evidenziata alcuna alterazione della salute intestinale dei suini in prova, poiché non c'è stato un aumento dell'incidenza della diarrea nel gruppo di controllo. Inoltre, la concentrazione di calprotectina fecale, utilizzata come marker dell'infiammazione intestinale, non ha mostrato differenze significative. D'altro canto, si è assistito a una riduzione del numero di trattamenti individuali nei suinetti che hanno ricevuto la muramidasi durante le quattro settimane post-svezzamento. I trattamenti erano riconducibili a sintomi respiratori legati a infezione da *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), evidenziata dalle lesioni polmonari riscontrate all'esame autoptico nei soggetti deceduti. Questo risultato potrebbe essere legato all'effetto della muramidasi nel migliorare la digeribilità della dieta, rendendo disponibile una maggiore quantità di energia e nutrienti per sostenere una risposta immunitaria efficace nel combattere l'infezione da APP.

Oltre agli effetti evidenziati sulla performance di crescita, la muramidasi ha anche influenzato significativamente la composizione microbica fecale. In particolare, abbiamo osservato una riduzione del numero di specie microbiche durante la fase iniziale post-svezzamento. Tuttavia, gli indici di diversità alfa non sono stati alterati, suggerendo che l'additivo ha ridotto la presenza di specie microbiche rare piuttosto che delle specie predominanti. Considerando invece l'effetto sulla composizione e abbondanza delle diverse specie microbiche, il risultato significativo sulla diversità beta, evidenzia come l'utilizzo della muramidasi abbia influenzato la struttura del microbiota intestinale. Un effetto simile sulla riduzione della diversità e sulla composizione del microbiota è stata evidenziata anche in precedenti studi su boiler (Bortoluzzi et al., 2023; Brugaletta et al., 2022; Wang et al., 2021).

Considerando l'effetto sull'abbondanza delle specie microbiche si evidenzia come la muramidasi abbia ridotto in modo significativo e in entrambi i punti di campionamento la presenza di *Turicibacter* e *Colidextribacter*. *Turicibacter* appartiene alla classe dei bacilli ed è principalmente coinvolto nella modifica degli acidi biliari e del metabolismo lipidico, mentre *Colidextribacter* è costituito da un'unica specie *Colidextribacter massiliensis*, isolata dal microbiota intestinale umano il cui'abbondanza relativa di questo taxa è piuttosto bassa, il suo ruolo nel microbiota intestinale suino non è ancora chiara ma è stato associato alla riduzione di fattori antinfiammatori IL-10 e IL-4 nel sangue in umana (Wang et al., 2022) e ad una maggiore incidenza di lesioni epatiche nei topi (Mardinoglu et al., 2016). Nonostante le modifiche nella composizione del microbiota, non sono state osservate alterazioni nella produzione di acidi grassi volatili (AGV). Questo indica che l'attività fermentativa del microbiota è rimasta intatta, suggerendo che la muramidasi non ha compromesso la funzionalità fermentativa del microbiota intestinale.

I nostri risultati suggeriscono che la muramidasi microbica potrebbe essere utilizzata come un efficace promotore di crescita nei suini svezzati, con potenziali benefici per l'industria suinicola. Nonostante ciò sono necessari nuovi studi per comprendere le implicazioni di questo additivo sul microbiota intestinale suino. Futuri studi dovrebbero concentrarsi su dosaggi differenti e su un'analisi più dettagliata delle specie microbiche specifiche influenzate dalla muramidasi. Inoltre, sarebbe utile investigare ulteriormente i meccanismi molecolari alla base degli effetti osservati, per comprendere meglio come questo additivo possa essere utilizzato al meglio nelle pratiche di allevamento.

## Bibliografia

- Bortoluzzi, C., Perez-Calvo, E., Olsen, P.B., van der Vaart, S., van Eerden, E., Schmeisser, J., Eising, I., Segobola, P., Sorbara, J.-O.B., 2023. Effect of microbial muramidase supplementation in diets formulated with different fiber profiles for broiler chickens raised under various coccidiosis management programs. *Poult. Sci.* 102, 102955. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102955>
- Brugaletta, G., De Cesare, A., Laghi, L., Manfreda, G., Zampiga, M., Oliveri, C., Pérez-Calvo, E., Litta, G., Lolli, S., Sirri, F., 2022. A multi-omics approach to elucidate the mechanisms of action of a dietary muramidase administered to broiler chickens. *Sci. Rep.* 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* 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Fašmon Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R.E., Woutersen, R., Cocconcelli, P.S., Dierick, N.A., Herman, L., Glandorf, B., Martelli, G., Maradona, M.P., Saarela, M., Galobart, J., Pettenati, E., Anguita, M., 2021. Safety and efficacy of the additive consisting of muramidase produced by *Trichoderma reesei* DSM 32338 (Balancius™) for use in weaned piglets (DSM Nutritional products Ltd). *EFSA J.* 19, e06452. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6452>
- Goes, E.C., Dal Pont, G.C., Maiorka, A., Bittencourt, L.C., Bortoluzzi, C., Fascina, V.B., Lopez-Ulibarri, R., Calvo, E.P., Beirão, B.C.B., Caron, L.F., 2022. Effects of a microbial muramidase on the growth performance, intestinal permeability, nutrient digestibility, and welfare of broiler chickens. *Poult. Sci.* 101, 102232. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102232>
- Mardinoglu, A., Boren, J., Smith, U., 2016. Confounding effects of metformin on the human gut microbiome in type 2 diabetes. *Cell Metab.* 23, 10–12.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- 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 Vet. Res.* 13, 65. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0981-z>
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W.S., Huttenhower, C., 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 12, R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

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

---

- Takahashi, S., Tomita, J., Nishioka, K., Hisada, T., Nishijima, M., 2014. Development of a Prokaryotic Universal Primer for Simultaneous Analysis of Bacteria and Archaea Using Next-Generation Sequencing. PLOS ONE 9, e105592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105592>
- Wang, Q., Zhang, S.-X., Chang, M.-J., Qiao, J., Wang, C.-H., Li, X.-F., Yu, Q., He, P.-F., 2022. Characteristics of the Gut Microbiome and Its Relationship With Peripheral CD4+ T Cell Subpopulations and Cytokines in Rheumatoid Arthritis. Front. Microbiol. 13, 799602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.799602>
- Wang, Y., Goossens, E., Eeckhaut, V., Calvo, E.P., Lopez-Ulibarri, R., Eising, I., Klausen, M., Debunne, N., Spiegeleer, B.D., Ducatelle, R., Immerseel, F.V., 2021. Dietary muramidase degrades bacterial peptidoglycan to NOD-activating muramyl dipeptides and reduces duodenal inflammation in broiler chickens. Br. J. Nutr. 126, 641–651. <https://doi.org/10.1017/S0007114520004493>

## Tabelle e Figure

**Tabella 1.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sul numero cumulativo di trattamenti antibiotici dei suinetti nella fase di svezzamento.

Trattamenti Antibiotici, <i>n</i>	Gruppi		$\chi^2$	<i>P</i> -value
	CTR	TRT		
d0-d7	0	0		
d7-d14	3	0	1.52	0.21
d14-d21	6	0	4.81	<b>0.03</b>
d21-d28	8	0	7.21	<b>&lt;0.01</b>

**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13%.

**Tabella 2.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sulla manifestazione di episodi diarroici durante la fase di svezzamento.

Giorni con diarrea (> consistenza fecale)	Gruppi			
	CTR	TRT	SEM	<i>P</i> -value
d0-d7	0.47	0.19	0.129	0.12
d7-d14	0.02	0.11	0.065	0.32

**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13%.

**Tabella 3.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sul peso vivo e sull'incremento ponderale giornaliero durante la fase di svezzamento.

Parametro	Gruppi		SEM	P-value
	CTR	TRT		
<b>Peso vivo, kg</b>				
d0	6.94	6.94	0.207	1.00
d7	7.64	7.88	0.340	0.61
d14	9.47	10.04	0.418	0.33
d21	11.90	12.90	0.493	0.14
d28	15.30	16.70	0.590	0.07
d35	20.00	21.60	0.689	0.10
d44	26.50	28.60	0.769	<b>0.05</b>
<b>Incremento ponderale giornaliero, g/d</b>				
d0-d7	127	140	11.8	0.42
d7-d14	267	312	14.5	<b>0.02</b>
d0-d14	195	225	11.9	0.07
d14-d21	347	413	18.0	<b>&lt;0.01</b>
d0-d21	247	288	12.4	<b>0.02</b>
d21-d28	474	542	19.4	<b>0.01</b>
d14-d28	410	477	17.0	<b>&lt;0.01</b>
d0-d28	304	351	13.2	<b>&lt;0.01</b>
d28-d35	682	700	21.0	0.52
d0-d35	379	421	13.5	<b>0.03</b>
d35-d44	705	745	17.5	0.11

d28-d44	696	727	15.3	0.15
d0-d44	447	491	12.8	<b>0.02</b>

**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13

**Tabella 4.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sull'ingestione alimentare e sull'indice di conversione alimentare durante la fase di svezzamento.

Parametro	Gruppi		SEM	P-value
	CTR	TRT		
<b>Ingestione alimentare, g/d</b>				
d0-d7	186	198	9.6	0.40
d7-d14	427	460	20.1	0.25
d0-d14	305	329	13.5	0.21
d14-d21	603	679	33.2	0.11
d0-d21	408	452	18.9	0.10
d21-d28	825	930	32.8	<b>0.03</b>
d14-d28	713	804	31.3	<b>0.04</b>
d0-d28	506	568	20.9	<b>0.04</b>
d28-d35	1002	1056	30.8	0.22
d0-d35	604	666	21.9	<b>0.05</b>
d35-d44	1197	1258	30.0	0.16
d28-d44	1109	1173	27.9	0.12
d0-d44	723	788	22.5	<b>0.05</b>
<b>Indice di conversione alimentare</b>				
d0-d7	2.16	1.64	0.524	0.48

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

d7-d14	1.65	1.49	0.058	<b>0.05</b>
d0-d14	1.61	1.50	0.059	0.18
d14-d21	1.77	1.64	0.067	0.17
d0-d21	1.68	1.57	0.044	<b>0.08</b>
d21-d28	1.74	1.74	0.040	0.99
d14-d28	1.74	1.69	0.037	0.37
d0-d28	1.68	1.62	0.030	0.19
d28-d35	1.47	1.52	0.024	0.16
d0-d35	1.59	1.59	0.021	0.80
d35-d44	1.70	1.76	0.051	0.40
d28-d44	1.59	1.63	0.022	0.24
d0-d44	1.62	1.61	0.022	0.69

**Abbreviazioni:**CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13

**Tabella 5.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sulla concentrazione di NH<sub>3</sub> fecale al d9 e d28

Item	Gruppi			P-value
	CTR	TRT	SEM	
<b>Calprotectina, ng/ml</b>				
d9	1122	1136	112	0.66
d28	1139	1151	107	0.67
<b>NH<sub>3</sub>, µmol/g</b>				
d9	22.9	27.1	2.0	0.12
d28	29.8	31.5	2.7	0.65

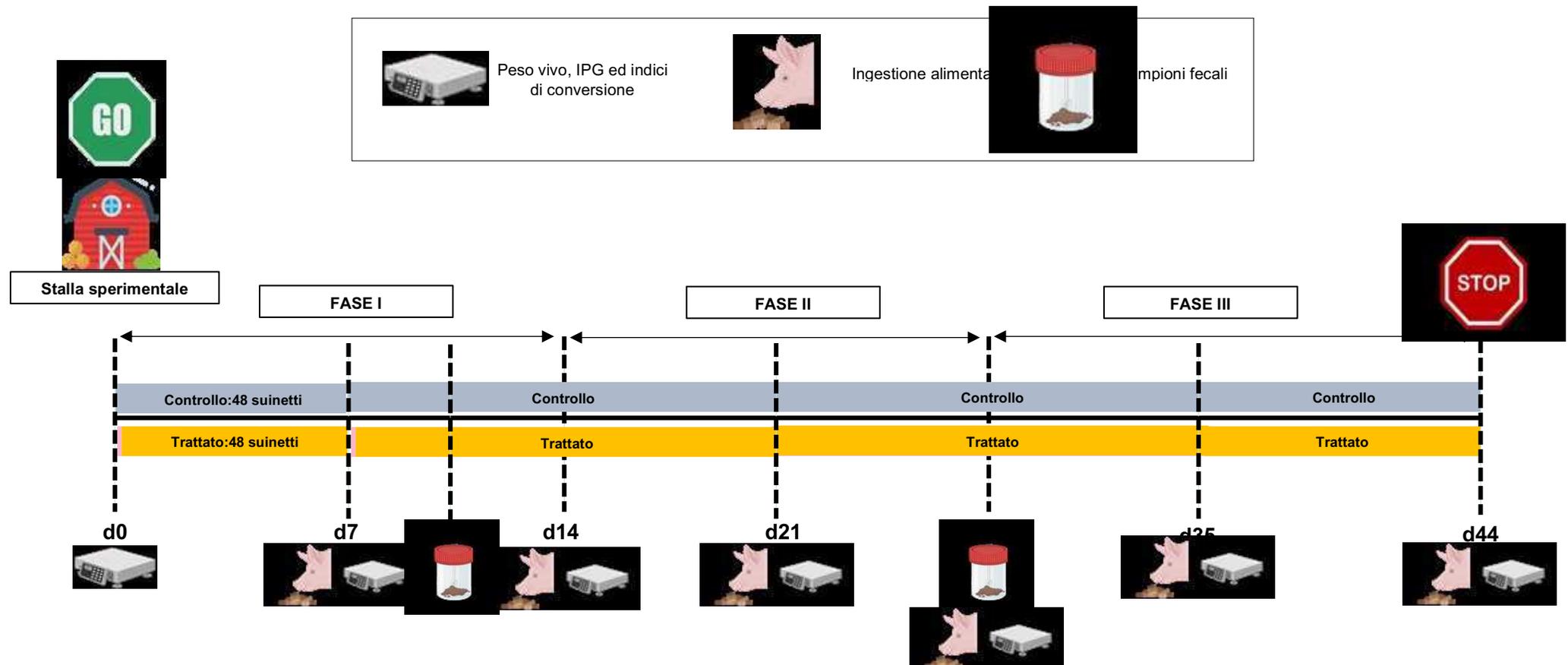
**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13

**Tabella 6.** Effetto della muramidasi microbica sulla concentrazione di Acido Lattico, Acetico, Propionico, Isobutirrico, Butirrico, Isovalerico, Valerico e il totale degli AGV nelle feci al d9 e d28.

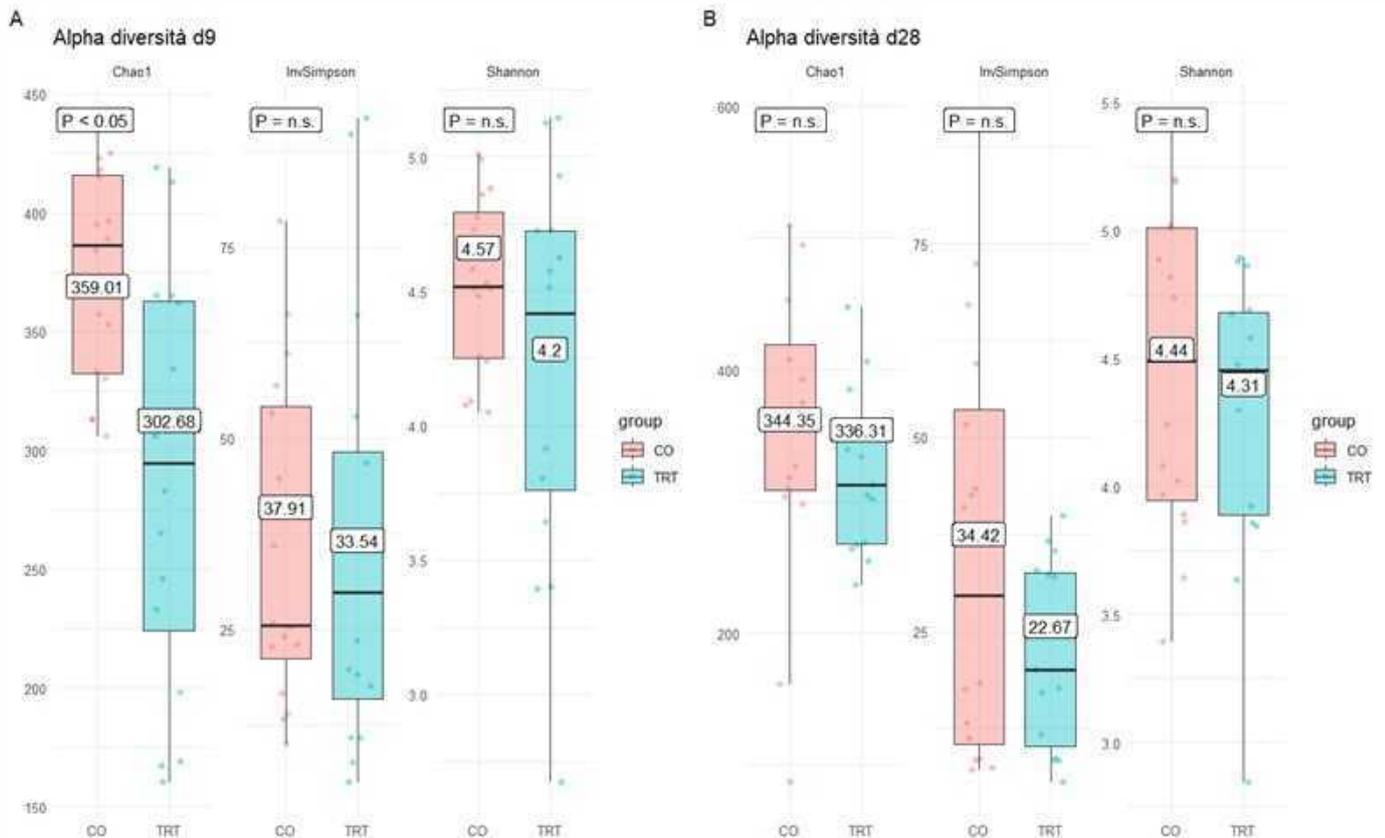
Acidi Grassi Volatili	Gruppi			
	CTR	TRT	SEM	<i>P-value</i>
<b>d9, mg/g</b>				
Lattico	2.57	2.98	0.58	0.58
Acetico	11.2	11.2	0.81	0.96
Propionico	4.05	4.14	0.35	0.84
Isobutirrico	1.64	1,53	0.168	0.66
Butirrico	14.3	15.6	1.74	0.57
Isovalerico	1.33	1.47	0.28	0.71
Valerico	0.15	0.18	0.03	0.45
Tot AGV	37.5	37.8	2.66	0.92
<b>d28, mg/g</b>				
Lattico	5.47	5.46	0.67	0.98
Acetico	13.9	12.9	0.68	0.22
Propionico	5.08	4.60	0.30	0.19
Isobutirrico	1.71	1.31	0.28	0.23
Butirrico	14.3	13.5	1.82	0.74
Isovalerico	1.87	1.62	0.28	0.49
Valerico	0.17	0.21	0.02	0.29
Tot AGV	42.0	40.2	2.75	0.57

**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.1

Figura 1. Schema sperimentale Azione 4 PSR Gesco

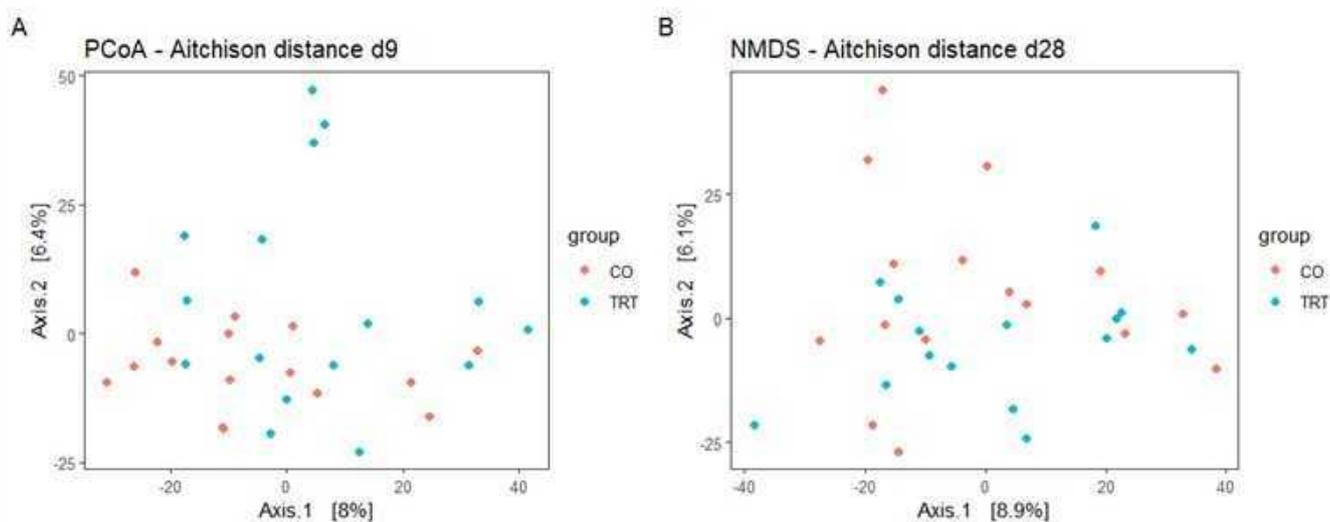


**Figura 2.** Effetto della supplementazione di muramidasi microbica sugli indici di alpha diversità microbica al d9 (A) e d28 (B)



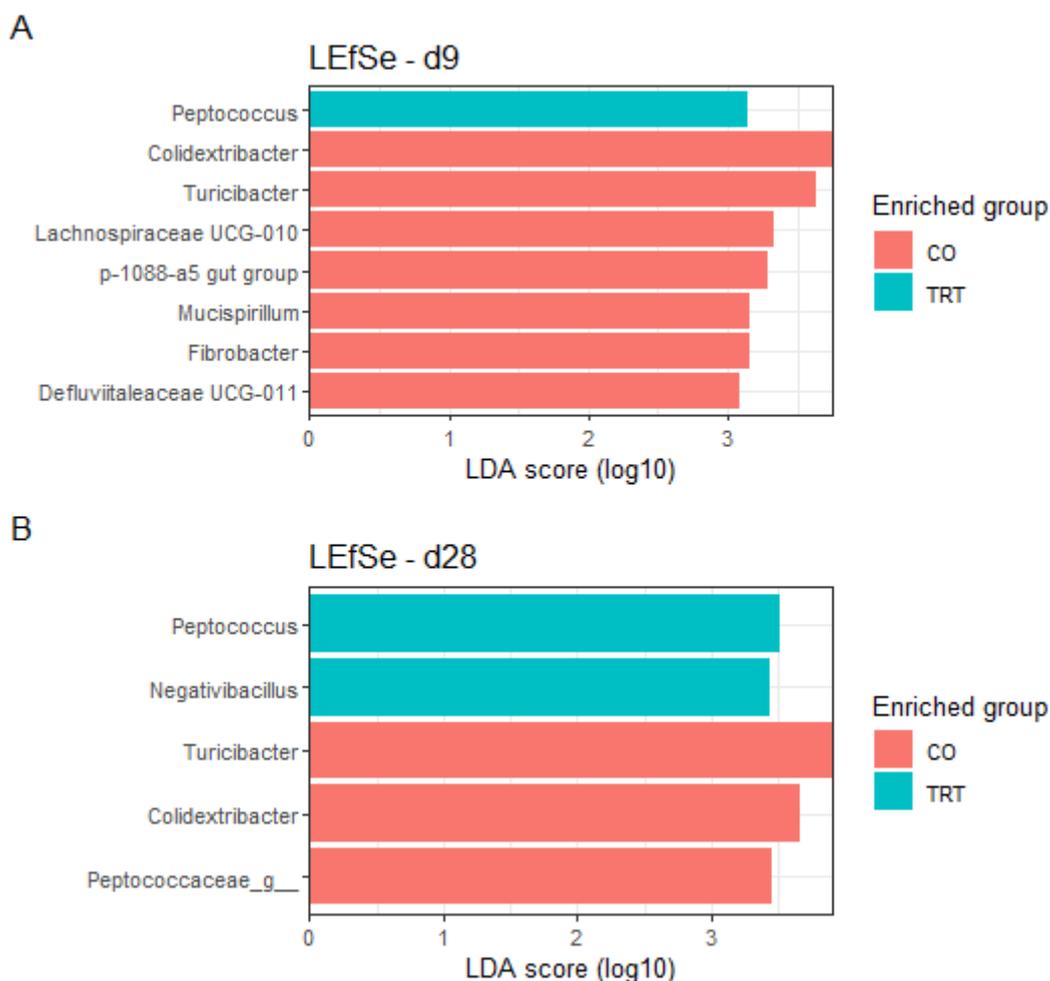
**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13

**Figura 3** Grafico analisi delle coordinate principali che mostra l'effetto della supplementazione di muramidasi sulla beta diversità microbica misurata tramite la distanza Aitchison al d9 (**A**) e al d28 (**B**)



**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13

**Figura 4.** Analisi LEfSe che evidenzia i generi microbici maggiormente espressi nelle feci dei gruppi CO e TRT al d9 (A) e d28 (B)



**Abbreviazioni:** CTR = Gruppo di Controllo alimentato con una dieta utilizzata impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti (Fase 1: d0-d14; Fase 2: d14-d28; Fase 3: d28-d44); TRT = Gruppo Trattato alimentato con una dieta standard impiegata dal gruppo Amadori per lo svezzamento dei suinetti con l'aggiunta della muramidasi microbica (Balancius™, DSM Nutritional Products) al dosaggio 0.13