



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

**Effetto dell'integrazione della dieta con *Chlorella*
vulgaris sul comportamento di polli da carne
sottoposti a temperature ambientali elevate**

Relatore

Prof. Marco Birolo

Laureando

Facchi Matteo

Matricola n.

2058426

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

INDICE

| | |
|--|-----------|
| RIASSUNTO..... | 5 |
| ABSTRACT..... | 7 |
| 1. INTRODUZIONE..... | 9 |
| 1.1 Il mercato delle carni avicole | 9 |
| 1.1.1 Il mercato attuale | 9 |
| 1.1.2 Prospettive future di mercato | 13 |
| 1.2 Cambiamento climatico e sfide per il comparto avicolo | 14 |
| 1.2.1 Effetto dello stress da caldo sul pollo da carne..... | 15 |
| 1.2.2 Strategie di controllo e mitigazione dello stress da caldo..... | 18 |
| 1.3 Utilizzo delle microalghe nei mangimi zootecnici | 21 |
| 1.3.1 Composizione e proprietà delle microalghe | 22 |
| 1.3.2 Effetto delle microalghe nell'alimentazione degli animali monogastrici | 24 |
| 1.3.3 Effetto delle microalghe nell'alimentazione del pollo da carne | 27 |
| 1.3.4 Impiego della <i>Chlorella vulgaris</i> nell'alimentazione delle specie avicole..... | 28 |
| 2. OBIETTIVI..... | 30 |
| 3. MATERIALI E METODI..... | 31 |
| 3.1 Dichiarazione etica | 31 |
| 3.2 Strutture, animali, diete e registrazioni <i>in vivo</i> | 31 |
| 3.3 Rilievi comportamentali | 35 |
| 3.4 Analisi statistica..... | 38 |
| 4. RISULTATI E DISCUSSIONE | 39 |
| 4.1 Prestazioni produttive..... | 39 |
| 4.1.1 Effetto della dieta | 39 |
| 4.1.2 Effetto della temperatura | 39 |
| 4.1.3 Effetto del sesso | 39 |
| 4.2 Risultati comportamentali | 41 |
| 4.2.1 Effetto della dieta | 43 |
| 4.2.2 Effetto della temperatura | 44 |
| 4.2.3 Effetto del sesso | 47 |
| 4.2.4 Effetto dell'ora..... | 49 |
| 4.2.5 Interazione "Temperatura × Ora" | 52 |
| 4.2.6 Interazione "Dieta x Temperatura" | 55 |
| 4.2.7 Interazione "Temperatura x Sesso" | 58 |
| 5. CONCLUSIONI | 59 |
| 6. BIBLIOGRAFIA | 60 |

RIASSUNTO

Il comparto avicolo si trova ad affrontare numerose sfide legate alla necessità di soddisfare l'aumento della domanda di prodotti di origine animale derivato dal costante incremento demografico, mitigare le emissioni di gas climalteranti e l'impatto ambientale della filiera e contestualmente contrastare gli effetti negativi che le elevate temperature esercitano sul benessere degli animali. L'industria mangimistica è fortemente stimolata a trovare soluzioni alimentari alternative più sostenibili per sostenere la produzione avicola e tra queste vi è l'impiego di microalghe.

La presente tesi ha inteso quindi valutare l'effetto dell'integrazione della dieta con microalga *Chlorella vulgaris* in percentuali del 0% (C0), 3% (C1) e 6% (C2) su polli da carne ibridi commerciali Ross 308, analizzando le risposte comportamentali ed il benessere degli animali in condizioni di termoneutralità e stress da caldo. A questo fine, è stata condotta una prova sperimentale in vivo su polli maschi e femmine alimentati con le tre diete differenti e stabulati a temperature normali (raccomandazioni Aviagen 2018) o a temperature elevate (+3,6 °C in media durante l'intero ciclo di allevamento con picchi maggiori di +6 °C). I polli sono stati accasati e allevati presso le strutture sperimentali dell'Università di Padova dal giorno di schiusa fino alla macellazione avvenuta a 42 giorni. La valutazione della risposta comportamentale è stata eseguita con metodo scan sampling per 10 secondi ogni 15 minuti per 24 ore continuative su tutti gli animali individuabili in prova all'età di 37 d tramite l'osservazione di videoregistrazioni.

Dai risultati ottenuti si può evincere che le microalghe hanno ridotto significativamente i comportamenti caratteristici derivanti dallo stress da caldo, come ansimare, alzare le ali e distendere la zampa a terra. Gli effetti misurati a livello di risposta comportamentale sono stati rafforzati anche dai dati relativi alla temperatura rettale, che hanno mostrato una riduzione significativa della temperatura corporea negli animali nutriti con *Chlorella vulgaris*. Inoltre, l'integrazione della dieta C2 con il 6%, ha migliorato il comfort degli animali. Nel complesso, si può affermare che la microalga *Chlorella vulgaris* potrebbe rappresentare un interessante integratore e fonte alimentare per mitigare gli effetti dello stress da caldo nei polli da carne.

Tuttavia, ulteriori approfondimenti che integrino l'analisi comportamentale con indicatori fisiologici di stress sono auspicabili per rafforzare le informazioni raccolte nella presente tesi ed avvalorarne i risultati ottenuti.

ABSTRACT

*Effect of dietary supplementation with *Chlorella vulgaris* on the behaviour of broiler chickens subjected to high environmental temperatures*

The poultry sector is facing many challenges as it must meet the increased demand for products of animal origin resulting from the constantly increasing population, mitigate the greenhouse gas emissions of its production chain and simultaneously counteract the negative effects that high temperatures have on animal welfare. The feed industry is strongly encouraged to find more sustainable alternative feed solutions to support poultry production such as the use of microalgae.

The purpose of this thesis is to evaluate the effect of dietary supplementation with microalgae *Chlorella vulgaris* in percentages of 0% (C0), 3% (C1) and 6% (C2) on commercial Ross 308 hybrid broilers, analysing behavioural responses and animal welfare under conditions of thermoneutrality and heat stress. For this purpose, an in vivo test was conducted on male and female chickens fed on the three different diets and housed at normal temperatures (recommended by Aviagen 2018) or at high temperatures (+3,6 °C during the whole breeding cycle with peaks greater than +6 °C). The chickens were stocked and reared at the experimental facilities of the University of Padua from the day of hatching until slaughter at 42 days. The evaluation of the behavioural response was performed by a scan sampling method for 10 seconds every 15 minutes for 24 continuous hours on all animals detectable in the test at the age of 37 d through the observation of video recordings.

The results show that microalgae have significantly reduced the characteristic behaviours resulting from heat stress, such as panting, raising the wings and spreading the leg on the ground. The measured behavioural response effects were also reinforced by rectal temperature data, which showed a significant reduction in body temperature in animals fed *Chlorella vulgaris*. In addition, the integration of the C2 diet with 6%, improved the comfort of animals. Overall, it can be said that the microalga *Chlorella vulgaris* could be an interesting supplement and food source to mitigate the effects of hot stress in broilers.

However, further investigation integrating the behavioural analysis with physiological indicators of stress are desirable to strengthen the information gathered in this thesis and support the current results.

1. INTRODUZIONE

1.1 Il mercato delle carni avicole

1.1.1 Il mercato attuale

A seguito di un regolare sviluppo nel decennio dal 2010 al 2020 ed un sottile rallentamento nel 2021 (-1,9%), la produzione europea di carni avicole concretizza nel 2022 un lieve aumento del 0,3% rispetto all'anno precedente, in linea con quanto realizzato nel 2018 (Ismea, 2023). Grazie ad una produzione di 11,4 milioni di tonnellate di prodotti avicoli, l'Unione Europea si assicura la completa autosufficienza con un tasso di autoapprovvigionamento maggiore del 100% e conferma il terzo posto come produttore a livello globale, rivestendo un ruolo commerciale importante a livello intercontinentale sia come esportatore sia come importatore. Le esportazioni sono rappresentate principalmente da referenze di pregio inferiore che trovano i mercati migliori nelle Filippine ed in Ghana, mentre le importazioni provengono principalmente da Brasile, Thailandia e Ucraina e sono rappresentate da tagli di elevato valore commerciale (Ismea, 2023).

Per quanto concerne il contesto europeo interno, nel 2022 la Polonia per il settimo anno consecutivo risulta il principale produttore contribuendo con 2,73 milioni di t di carni avicole, ovvero il 24% della produzione totale continentale, ciò grazie ad una politica produttiva costante che le ha permesso, nel corso del decennio 2010 - 2020, di raddoppiare la propria produzione. Seguono in ordine decrescente Spagna, Germania, Francia ed Italia che si posiziona al quinto posto con una quota dell'11% ed una produzione di 1,21 milioni di t (*Figura 1*). Con una domanda del mercato interno italiano completamente soddisfatta, l'incremento di produzione nazionale risulta abbastanza contenuto, ma innovazione, differenziazione e miglioramento degli standard qualitativi degli allevamenti e delle carni lascia spazio a prospettive che potrebbero vedere un'espansione geografica del mercato (Ismea, 2023).

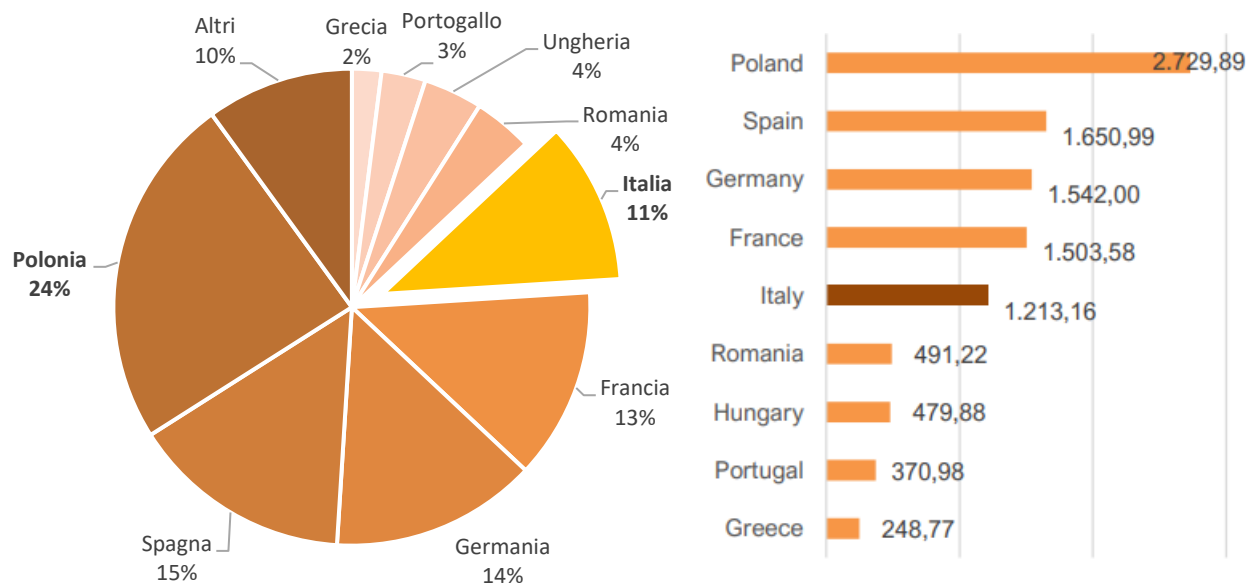


Figura 1. Quote dei principali produttori europei di carni avicole e produzione di carni avicole dei principali paesi europei nel 2022 (x1000t); Elaborazioni Ismea su dati Eurostat

Per il settore avicolo nazionale il 2022 è stato un anno particolarmente complesso che ha visto l'offerta di carne di pollame subire un deciso calo, scendendo di quasi il 12% rispetto al 2021, toccando i minimi degli ultimi dieci anni. Molteplici sono le cause imputabili a questa flessione che, oltre al sostanzioso aumento generalizzato dei costi legato alla particolare situazione geopolitica, è dovuta anche ad un problema sanitario di importante dimensione, ovvero l'epidemia 2021–2022 di influenza aviaria ad alta patogenicità (HPAI), che ha costretto una parziale riduzione degli accasamenti (Ismea, 2023)

L'epidemia di HPAI osservata nel 2021-2022 è stata finora la più grande riscontrata in Europa, con più di 6000 rilevamenti di virus HPAI in 37 paesi europei, 2.467 focolai registrati, 48 milioni di uccelli abbattuti negli stabilimenti colpiti, 187 rilevamenti negli uccelli in cattività e 3.573 eventi negli uccelli selvatici (EFSA et al., 2022). L'Italia ha visto purtroppo coinvolti 317 allevamenti avicoli e oltre 14 milioni di animali. La maggior parte degli allevamenti colpiti dall'epidemia è localizzata in un'area considerata ad alta densità tra Veneto e Lombardia e, in particolare, nelle province di Verona, Padova, Vicenza, Brescia e Mantova (Fornasiero et al., 2023). Al primo di settembre 2023 i rilevamenti del virus HPAI nei volatili selvatici hanno superato il numero di quelli segnalati nell'intero anno epidemiologico 2021-2022, al contrario, meno del 40% delle segnalazioni sono state riscontrate negli avicoli domestici rispetto allo stesso periodo nell'anno epidemiologico precedente (EFSA et al., 2023). Al fine di contrastare il fenomeno epidemiologico L'EFSA ha valutato i vaccini

disponibili e la loro efficacia contro il virus dell'HPAI nel pollame (di cui solo uno autorizzato ed attualmente in commercio) e ha fornito indicazioni sulle possibili strategie vaccinali. A marzo del 2024 l'EFSA pubblicherà un parere scientifico che valuterà le misure di sorveglianza e di riduzione del rischio nelle aree e negli allevamenti vaccinati (EFSA Panel on AHAW et al., 2023).

Il 2022, oltre al calo dell'offerta avicola italiana, ha visto una domanda interna che, dopo il lungo periodo di crisi si è manifestata in progressivo consolidamento. Contestualmente, i costi di produzione (soprattutto mangimi ed energetici) hanno subito un'impennata rispetto all'anno precedente. Di conseguenza, si è vista una rapida e consistente crescita dei listini che ha incoraggiato la concorrenza estera con le importazioni cresciute in misura consistente (+65,6%), mentre le esportazioni hanno registrato un calo senza precedenti (-24% circa). Per il settore carni avicole nazionale il 2022 registra quindi un leggero peggioramento della bilancia commerciale e un autoapprovvigionamento esatto del 100% (Ismea, 2023).

Per quanto concerne i prezzi nel corso dell'annata 2022, il valore dei prodotti dell'allevamento avicolo ha toccato nuovi "massimi" storici. Tra ottobre 2021 e marzo 2022 i prezzi all'origine dei broilers e dei tacchini sono aumentati di oltre il 50% e ad aprile 2022 hanno raggiunto il picco massimo (1,79 €/Kg). Successivamente si è registrato un lieve ridimensionamento pur mantenendosi su livelli nettamente più elevati di quelli del precedente triennio. Nel primo trimestre 2023 i listini si sono leggermente ridotti a 1,30 €/kg a febbraio per poi risalire già dal mese di marzo (Figura 2) (Ismea, 2023). Il picco viene toccato a giugno (1,52 €/kg), si assiste poi a una flessione fino ad arrivare a 1,38 €/kg a novembre (Figura 3).

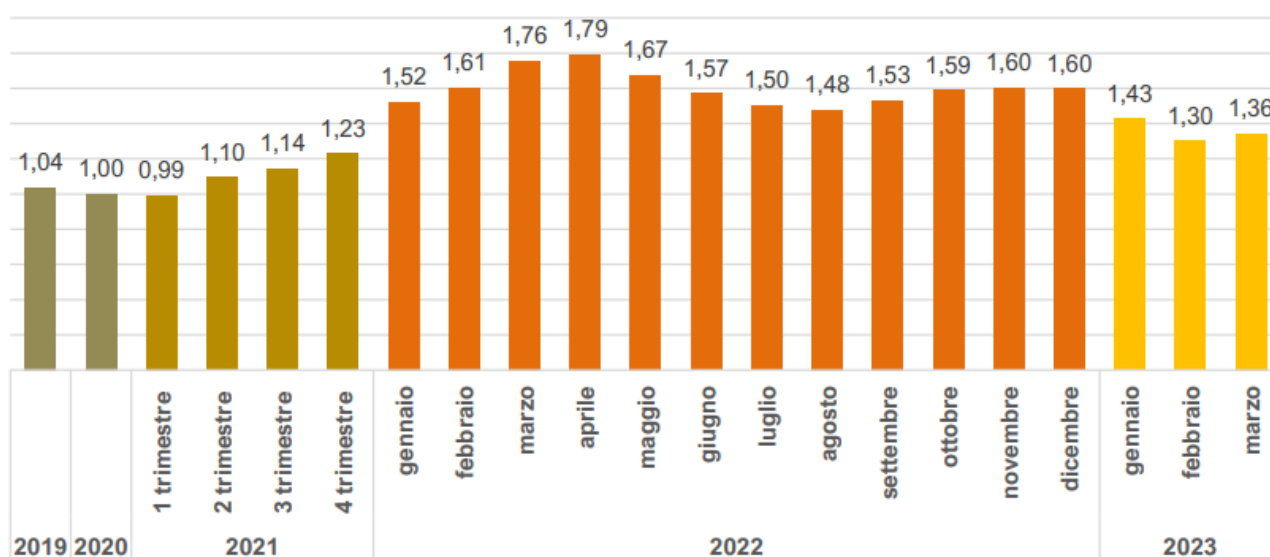


Figura 2. Evoluzione dei prezzi in allevamento del pollo dal 2019 a marzo 2023 (€/Kg peso vivo); Rete di rilevazione

Ismea

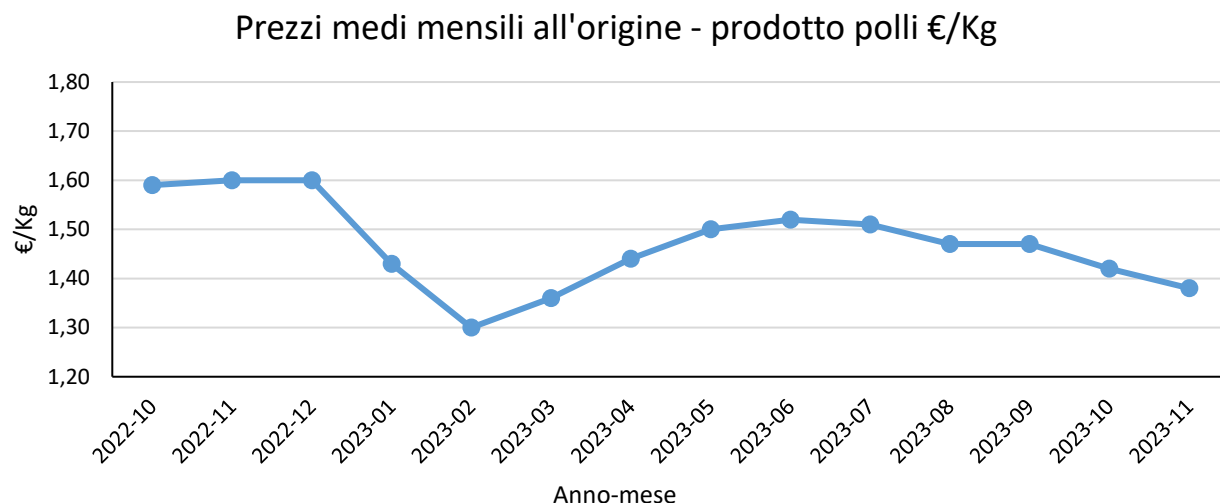


Figura 3. Evoluzione dei prezzi in allevamento del pollo da ottobre 2022 a novembre 2023 (€/Kg peso vivo); Rete di rilevazione Ismea

In Italia le carni avicole sono quelle che realizzano la miglior performance nell’arco dell’ultimo quinquennio con volumi venduti nel 2022 maggiori del 14% rispetto a quelli del 2018, andando a rappresentare il 41% delle carni acquistate, con un consumo medio pro-capite che ha superato i 20,5 Kg (Ismea, 2023). Questo grazie ad un prezzo più accessibile rispetto alle altre carni, alla facilità e rapidità di esecuzione delle preparazioni e alle buone proprietà sensoriali (consistenza, colore e sapore). Inoltre, la carne avicola possiede un importante profilo nutrizionale composto da un alto contenuto di proteine, un basso contenuto di grassi e colesterolo ed un rapporto equilibrato di acidi grassi n-3/n-6 (Petracci et al., 2013).

A parte i casi dei piccoli allevamenti rurali, l’avicoltura italiana è per lo più organizzata secondo un modello intensivo e le filiere avicole sono integrate verticalmente attraverso accordi contrattuali che coinvolgono le imprese mangimistiche, gli allevatori e le imprese di trasformazione delle carni. Attraverso il contratto di soccida tra allevatore (soccidario) e trasformatore (soccidante), il soccidante fornisce gli input produttivi (pulcini, mangimi, farmaci) al soccidario, inoltre fornisce l’assistenza tecnica per far sì che gli animali a fine ciclo produttivo presentino le caratteristiche desiderate in termini quantitativi e qualitativi. Questa formula consente agli allevatori di annullare il rischio di mercato dovuto alla variazione dei prezzi dei prodotti finali e dei fattori produttivi, ma ne indebolisce la capacità contrattuale ricoprendo una posizione passiva all’interno del sistema. Viceversa, il trasformatore conclude accordi anche con i fornitori dei mangimi e degli altri input

destinati agli allevamenti, assumendo una posizione di comando all'interno della filiera (Coderoni & Pontrandolfi, 2016).

Al 31 ottobre 2023 nella Banca Dati Nazionale dell'Anagrafe Zootecnica risultano presenti 2790 allevamenti di polli da carne e rispettivamente 75.235.159 di capi allevati. Più dei 2/3 degli allevamenti sono concentrati al Nord e nelle sole prime quattro Regioni, rispettivamente Veneto, Lombardia, Emilia-Romagna e Piemonte, si allevano quasi il 70% dei capi nazionali (Ministero della Salute, 2023) (Figura 4).

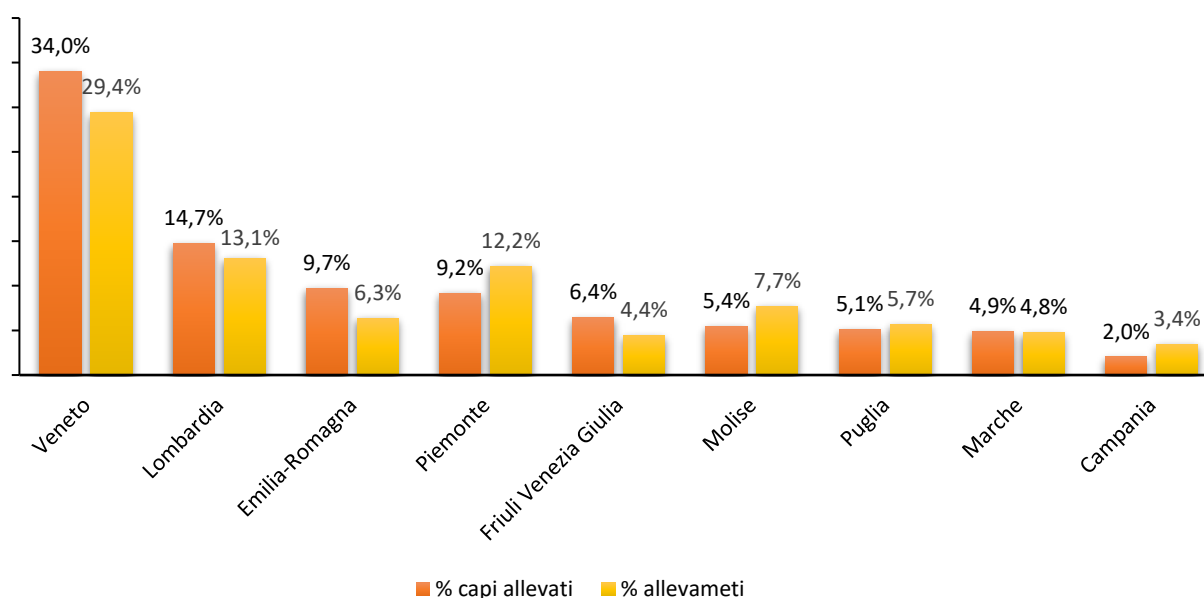


Figura 4. Ripartizione percentuale dei capi ed allevamenti di broiler nelle diverse regioni; dati forniti dalla BDN dell'Anagrafe Zootecnica istituita dal Ministero della Salute presso il CSN dell'Istituto "G. Caporale" di Teramo 2023

1.1.2 Prospettive future di mercato

La popolazione mondiale attualmente supera gli 8 miliardi di persone (UN, 2023) e si prevede che entro il 2050 si raggiungeranno i 10 miliardi di abitanti (FAO, 2017). In questo scenario si avrà una crescente richiesta di alimenti di origine animale che forniscono oltre alle proteine nobili un'ampia gamma di micronutrienti, come vitamina A, vitamina B-12, riboflavina, calcio, ferro e zinco, difficili da ottenere in quantità adeguate utilizzando solamente fonti vegetali (Mottet & Tempio, 2017). La produzione globale di carne subirà un incremento raggiungendo i 366 milioni di t entro il 2029 e la maggior quota dell'aumento di produzione (come della domanda) sarà attribuita alle regioni in via di sviluppo. In particolar modo, la carne avicola subirà l'aumento di produzione

maggiore rispetto alle altre carni, sebbene con un andamento minore rispetto al decennio 2010-2020, rappresentando circa il 50% del totale incremento delle carni nel decennio 2020-2030 (OECD-FAO, 2020). Questo grazie agli importanti progressi nella selezione genetica, nella gestione igienico sanitaria e nell'alimentazione che permettono la produzione di un cibo ad elevato valore nutritivo con un'alta efficienza alimentare. La produzione vedrà come protagonisti principalmente Cina, Brasile e Stati Uniti e, per quanto concerne l'ambito europeo, Ungheria, Polonia e Romania grazie agli importanti investimenti effettuati in passato ed ai minori costi di produzione (OECD-FAO, 2020). Inoltre, l'aumento di produzione sarà giustificato dal fatto che gli avicoli presentano un impatto ambientale minore, in quanto possiedono un ottimo indice di conversione alimentare e quindi richiedono sostanzialmente meno terra per unità di proteina prodotta rispetto ai bovini da carne (Flachowsky et al., 2017) con inferiori emissioni di gas serra rispetto ai bovini, sia da carne che da latte, ed ai suini (Korver, 2023).

Tuttavia il processo di intensificazione delle produzioni ha portato ad una progressiva riduzione della variabilità genetica e la conseguente vulnerabilità degli animali agli stress biotici e abiotici (de Vries & de Boer, 2010). Infatti, esistono tratti negativi associati alle importanti performance produttive dei broiler ad elevata crescita ed efficienza alimentare, come ascite, sindrome della morte improvvisa, ridotta competenza immunitaria, discondroplasia tibiale, ridotta prestazione riproduttiva e altri disturbi metabolici che rappresentano e rappresenteranno limiti fisiologici ed economici a cui il progresso scientifico e genetico dovrà porre rimedio (Nkukwana, 2018).

La disponibilità economica dei consumatori dei paesi sviluppati fa sì che, nell'imminente futuro, si sviluppino criteri di acquisto diversi dal prezzo come l'impatto ambientale, il benessere animale, le caratteristiche sensoriali del prodotto ed etiche del processo produttivo, la tutela di razze e produzioni locali e l'apporto di elementi nutritivi, portando a nuove segmentazioni di mercato, nuove possibilità di approvvigionamento e ad una ridefinizione del termine "qualità del prodotto" (Jez et al., 2011; Pinto da Rosa et al., 2021).

1.2 Cambiamento climatico e sfide per il comparto avicolo

Per "cambiamenti climatici" si intendono le variazioni a lungo termine delle temperature e dei modelli meteorologici. Queste variazioni possono avvenire in maniera naturale, tuttavia, a partire dal XIX secolo, le attività antropiche sono state il fattore principale all'origine dei cambiamenti climatici, imputabili essenzialmente all'impiego di combustibili fossili (come il carbone,

il petrolio e il gas), alla deforestazione e all'allevamento del bestiame. L'emissione di gas climalteranti quali anidride carbonica(CO₂), metano (CH₄) protossido di azoto (N₂O) ed i fluorurati, intensifica l'effetto serra comportando, di conseguenza, un aumento della temperatura dell'atmosfera terrestre (Lamb et al., 2021). Si stima, a meno che nei prossimi decenni non si verifichino profonde riduzioni delle emissioni di gas serra, che nel corso del XXI secolo si assisterà ad un aumento della temperatura media globale compreso tra 1,5 °C e 2 °C rispetto ai livelli preindustriali (Masson-Delmotte et al., 2021). Il comparto zootecnico in tutto il mondo si trova quindi ad affrontare numerose sfide a causa del cambiamento climatico e dell'impatto negativo che le elevate temperature esercitano sul benessere degli animali. In particolar modo, l'industria avicola risulta essere suscettibile agli effetti arrecati dell'elevata umidità relativa e temperatura ambientale (Abare et al., 2023), in quanto gli animali presentano un rapido metabolismo, una temperatura corporea normalmente elevata (compresa tra i 41-42 °C) e la difficoltà di scambiare calore con l'esterno dovuta dalla copertura del piumaggio e all'assenza di ghiandole sudoripare (Liu et al., 2020).

1.2.1 Effetto dello stress da caldo sul pollo da carne

Gli avicoli sono animali endotermici omeotermi, ovvero in grado di modificare la propria temperatura corporea, in un intervallo relativamente ristretto, a seconda delle diverse condizioni ambientali attraverso la produzione di calore (termogenesi) e la perdita o dissipazione di calore (Cangar et al., 2008). Lo stress è la reazione dell'organismo animale a stimoli (reali o percepiti) che disturbano il suo normale stato fisiologico, o in altre parole, una risposta biologica adattativa per ripristinare l'omeostasi (Rostagno, 2020) che in biologia è definita come l'attitudine propria degli organismi viventi a mantenere in stato di equilibrio le proprie caratteristiche al variare delle condizioni esterne (Treccani, 2023). Gli animali esposti a condizioni di stress da caldo, attraverso la termoregolazione effettuano cambiamenti o adattamenti comportamentali e fisiologici al fine di ripristinare l'omeostasi (Cangar et al., 2008). L'animale è in omeostasi quando è nella "zona di comfort termico" in cui mantiene la propria temperatura corporea senza dover variare il metabolismo, l'attività muscolare e il livello produttivo. La zona di termoneutralità è delimitata dalla temperatura critica inferiore, al di sotto della quale l'animale è costretto ad aumentare la produzione e a ridurre le perdite di calore, e dalla temperatura critica superiore, oltre la quale esso deve ridurre la produzione di calore attraverso la riduzione dell'ingestione e dell'attività motoria, e

disperdere quello in eccesso tramite la vasodilatazione cutanea e la ventilazione polmonare (Chiumenti et al., 2016). Lo stress da caldo si verifica quando si oltrepassa la zona di termoneutralità e si viene a creare un bilancio termico negativo tra la quantità di energia termica netta dissipata dall'animale all'ambiente e la quantità di energia termica prodotta dall'animale. Questo squilibrio può essere causato da una combinazione di diversi fattori ambientali, come la temperatura dell'aria, la densità di allevamento, l'umidità relativa e la ventilazione, e da caratteristiche soggettive dell'animale, come specie, sesso, età, dimensione, metabolismo e meccanismi termoregolatori (Rostagno, 2020). Per il pollo da carne la zona di termoneutralità risulta essere compresa tra 18–24°C e lo stress termico si verifica quando la temperatura ambientale supera i 25 °C (Khan et al., 2021).

Secondo quanto riportato da Krishnan et al. (2023), la dispersione del calore nelle specie avicole può avvenire attraverso cinque meccanismi principali, ovvero (Krishnan et al., 2023):

- conduzione: dispersione di calore tramite il contatto tra l'animale e una superficie più fredda;
- convezione: dispersione del calore grazie ad un fluido in movimento ovvero l'aria forzata. Questo risulta essere il metodo più efficiente purché il flusso sia sufficientemente adeguato da rimuovere lo strato d'aria che avvolge l'animale. Spesso, al fine di aumentare la capacità di scambio termico, l'aria è raffreddata da sistemi come i cooling systems prima di essere immessa all'interno dell'impianto;
- irradiazione: dispersione di calore nell'ambiente circostante tramite onde elettromagnetiche. Questa tipologia di dispersione non prevede la necessità di un solido o fluido;
- evaporazione: asportazione di energia termica da parte dell'acqua dovuta al passaggio di stato da liquido a vapore. Negli avicoli avviene attraverso la respirazione. L'evaporazione è efficace solo nel caso in cui l'umidità relativa non sia elevata;
- escrezione: dissipazione del calore attraverso l'aumento del tasso di escrezione delle deiezioni.

Lo stress da caldo può essere diviso in due tipi: 1) lo stress da caldo acuto che è rappresentato dall'esposizione degli animali ad un intenso calore derivato da alte temperature per un periodo molto breve che causa elevata mortalità per soffocamento. 2) Lo stress da caldo cronico; gli uccelli sono esposti a temperature meno intense rispetto allo stress da caldo acuto, ma per un periodo di tempo più prolungato (anche diverse settimane) che si traduce in un calo delle performance di accrescimento (Khan et al., 2021).

1.2.1.1 Effetto sulle prestazioni produttive

Uno tra i meccanismi adattivi per ridurre al minimo la produzione di calore metabolico è la riduzione dell'ingestione. In molti studi condotti su uccelli e altri animali sottoposti a stress da caldo è stata riportata una significativa diminuzione dell'ingestione giornaliera, dell'incremento medio giornaliero e dell'efficienza di conversione dei mangimi in quanto, in condizioni di stress, la priorità di ogni organismo vivente risulta essere la sopravvivenza piuttosto che l'accrescimento (Nawaz et al., 2021). Uno studio in cui i polli da carne erano sottoposti a stress termico continuo a 32.0 °C ha rivelato un significativo peggioramento delle prestazioni di crescita, riducendo la digeribilità delle proteine fino al 9,7%, un aumento dell'apporto di energia metabolizzabile (+20.3%) e della produzione di calore (+35.5%). Si è riscontrata, inoltre, una diminuzione della ritenzione di energia (-20.9%) e dell'efficienza energetica (-32.4%) rispetto al gruppo di controllo (Souza et al., 2016). Questo perché il pollo investe più energie per mettere in atto meccanismi di espulsione del calore, avendo di conseguenza meno energia netta da fissare nei vari tessuti (Souza et al., 2016). L'efficienza digestiva cala anche per un minor assorbimento degli elementi, in quanto l'aumento del flusso sanguigno verso l'epidermide ed una conseguente diminuzione del flusso splancnico agli organi interni, crea un ambiente ischemico (ipossia) nella mucosa intestinale, promuovendo lo stress ossidativo con produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Si assiste quindi ad una perdita dell'integrità strutturale e funzionale dell'intestino con un aumento della permeabilità ai patogeni e seguenti reazioni infiammatorie locali e talvolta sistemiche dannose (Rostagno, 2020). Un altro importante aspetto negativo risulta essere l'aumento della mortalità (Liu et al., 2020).

Inoltre, negli uccelli sottoposti a condizioni di stress da calore, si verifica nei tessuti una diminuzione della deposizione proteica a favore di quella lipidica, come meccanismo termoregolatore causato dalla maggior energia necessaria per digerire le proteine rispetto ai grassi contenuti negli alimenti (Habashy et al., 2017).

Lo stress da caldo prolungato provoca alla carne di pollo un difetto denominato "DFD", acronimo inglese di "Dark Firm and Dry" legato alla scarsa disponibilità di nutrienti che provoca un forte calo delle riserve di glicogeno muscolare, con conseguente minore conversione in acido lattico ed una limitata riduzione del pH *post mortem*. La carne acquisisce capacità di ritenzione idrica elevata, in quanto le proteine miofibrillari sono strettamente legate tra loro e tutto ciò porta la carne ad assumere una colorazione scura, una consistenza soda e secca (DFD) (Song & King, 2015). Invece quando le condizioni di stress sono acute si innesca la glicolisi anaerobica che libera ioni H⁺ e acido lattico all'interno dei tessuti muscolari prima, durante e dopo la macellazione dell'animale. Si assiste

quindi ad una rapida caduta del pH muscolare che, unita alla elevata temperatura della carcassa, provoca una veloce denaturazione delle proteine dando origine a carni pallide, morbide ed essudative (PSE) caratterizzate da una bassa capacità di ritenzione idrica (Van Laack et al., 2000).

1.2.1.2 Effetto su salute e comportamento

In generale, gli avicoli manifestano comportamenti analoghi tra loro in caso di stress da caldo, con variazioni individuali in intensità e durata della risposta. Si è visto che gli uccelli sottoposti a condizioni di stress da caldo trascorrono meno tempo ad alimentarsi e più tempo ad abbeverarsi. Inoltre, ansimano, sollevano le ali, ed assumono un comportamento letargico trascorrendo più tempo coricati (spesso in zone più fresche per trasferire calore per contatto con la lettiera, le pareti dei muri o nella zona degli abbeveratoi) e dedicando meno tempo in posizione eretta e a camminare (Lara & Rostagno, 2013). Gli uccelli possiedono strutture di fondamentale importanza durante la respirazione, ovvero le sacche d'aria. Questi sacchi aeriferi sono espansioni dei polmoni che aumentano la superficie interna a contatto con l'aria e quindi gli scambi gassosi e svolgono un ruolo fondamentale quando l'animale subisce lo stress da caldo, in quanto aumentando la frequenza respiratoria ed aprendo il becco (*panting*), aumenta in maniera significativa la perdita di calore per evaporazione (Fedde, 1998). Tuttavia, l'iperventilazione per un periodo prolungato comporta ipercapnia (aumento dei livelli di anidride carbonica) ed alcalosi (incremento del pH sanguigno), diminuendo i livelli di calcio libero nel sangue (Lara & Rostagno, 2013).

Le alte temperature ambientali alterano l'attività del sistema neuroendocrino, con conseguente attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene che causa elevate concentrazioni di corticosterone nel plasma (Nawaz et al., 2021). Infine, lo stress da caldo esercita un effetto immunosoppressore sui polli da carne e sulle galline ovaiole. Infatti, i polli da carne hanno mostrato livelli più bassi di anticorpi circolanti totali, di IgM e IgG specifici, sia durante le risposte umorali primarie che secondarie con una risposta anticorpale ed una capacità fagocitica dei macrofagi ridotta. Inoltre, è stata osservata una significativa riduzione di peso degli organi quali timo, borsa di Fabrizio, milza e fegato (Lara & Rostagno, 2013).

1.2.2 Strategie di controllo e mitigazione dello stress da caldo

Le strategie di mitigazione per ridurre lo stress da caldo nel pollo da carne possono essere ambientali, genetiche ed alimentari.

Un elevato livello di protezione ambientale da condizioni stressanti può essere ottenuto utilizzando le migliori soluzioni tecniche, impiantistiche, gestionali e di controllo, ponendo particolare attenzione alla ventilazione in entrata e in uscita dagli edifici al fine di rimuovere cataboliti (ammoniaca, anidride carbonica), diminuire l'UR ed abbassare la temperatura attraverso sistemi di raffrescamento cooling system o nembo (Figura 5) (Fisinin & Kavtarashvili, 2015). La copertura delle strutture deve essere pulita e presentare una superficie lucida riflettente la radiazione solare tramite vernice metallica di zinco o copertura di alluminio limitando il riscaldamento delle superfici e degli ambienti (Pawar et al., 2016).

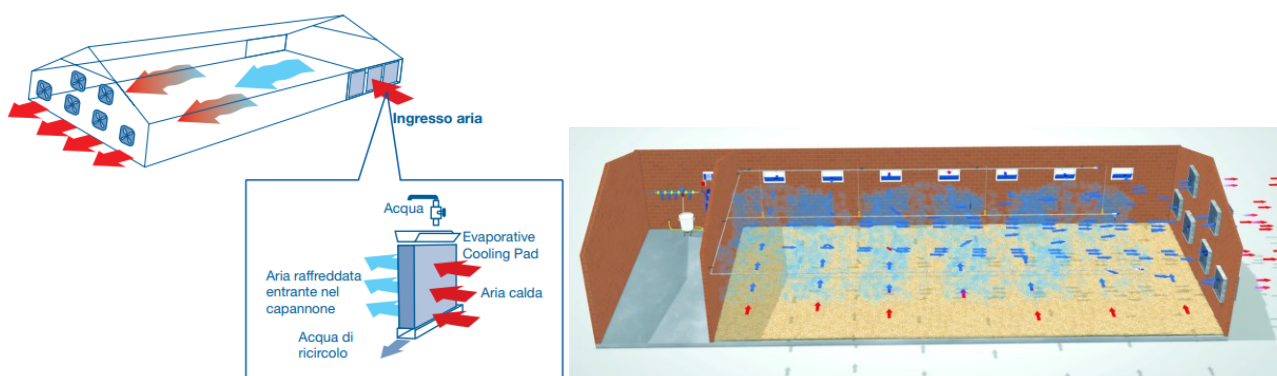


Figura 5. A sx sistema raffreddamento a pannello (cooling system); Ross Broiler manuale di gestione 2018. A dx sistema per nebulizzazione (nembo); lubingsystem.com

La selezione genetica per la tolleranza allo stress da caldo nei polli sta acquisendo sempre più rilevanza. A tale scopo si sono individuati diversi geni dominanti che conferiscono caratteri come il collo nudo (Na) o la piuma Frizzle (F) (Pawar et al., 2016). Il gene Na o Na/na (collo nudo) influisce direttamente sulla crescita della piuma e riducendo la copertura del corpo dell'animale dal 20% al 40% rispetto al gene na/na (completamente piumato), ha migliorato l'efficienza alimentare, il peso corporeo ed abbassato la temperatura corporea degli animali (Lin et al., 2006). Il gene della piuma Frizzle (F) limita l'isolamento termico riducendo le dimensioni ed arricciando le piume che acquisiscono così maggiore capacità di dispersione termica (Lin et al., 2006). Inoltre, il gene recessivo legato al nanismo (Dw) riduce il 30-40% delle dimensioni del corpo adulto e la produzione di calore metabolico nei polli da carne ed aumenta l'efficienza di dispersione avendo un rapporto superficie/peso più alto (Lin et al., 2006; Pawar et al., 2016).

Infine, per quanto riguarda le strategie alimentari è stato notato che evitando l'alimentazione *ad libitum* a favore della restrizione alimentare e fornendo mangime nelle ore più fresche si riduce la produzione di calore endogeno (Nawaz et al., 2021). L'integrazione di grassi nella dieta, a scapito

della proteina, rallenta la velocità di transito intestinale e migliora l'efficienza di utilizzo dei nutrienti (Pawar et al., 2016). Infatti, l'aumento dell'inclusione di grassi fino al 5% allevia gli effetti collaterali dello stress da caldo favorendo un incremento del peso corporeo e dell'accrescimento e un miglioramento dell'indice di conversione (Ghazalah et al., 2008). L'integrazione alimentare di aminoacidi non essenziali (come Taurina, L-teanina e L-citrullina) e betaina, presenti in modestissime quantità nella formulazione dei mangimi (pochi g se non mg/kg), apportano diversi benefici negli animali soggetti a stress da caldo (Uyanga et al., 2022). La taurina è un aminoacido non proteico che risulta essere coinvolto in numerosi processi biologici come la coniugazione degli acidi biliari, la stabilità della membrana, l'osmoregolazione, la regolazione del flusso di calcio cellulare e l'immunomodulazione. Inoltre, è stato dimostrato che offre effetti antinfiammatori ed antiossidanti protettivi in caso di stress da elevate temperature (Surai et al., 2020). Infatti, si è visto che la supplementazione alla dieta di 5 g taurina/kg per 2 settimane nei polli da carne sottoposti a 32 °C ha attenuato la perdita di peso del muscolo del petto (Ma et al., 2021). La L-teanina, un aminoacido naturale presente nelle foglie di the, riduce la concentrazione di ormoni dello stress come corticosterone, dopamina e noradrenalina (Saeed et al., 2020). La L-citrullina, un alfa-amminoacido non essenziale, è un metabolita cruciale del ciclo dell'urea ed è considerata essenziale per le funzioni intestinali. È coinvolta in vari processi fisiologici, tra cui la sintesi dell'arginina, l'equilibrio dell'azoto, la sintesi proteica, la crescita e lo sviluppo, l'omeostasi intestinale e le prestazioni muscolari (Uyanga et al., 2022). Inoltre, è stato dimostrato che l'assunzione orale di L-citrullina 15 mmol/10 ml/kg di peso corporeo in dose singola e doppia permette una maggior termotolleranza degli uccelli in condizioni di temperature elevate, in quanto esercita un effetto ipotermico (Chowdhury et al., 2017). Infine, la betaina è un composto di ammonio quaternario zwitterionico che svolge attività metaboliche fondamentali come donatore di gruppi metile (CH₃), consentendo di risparmiare l'impiego di metionina, e osmolita, prevenendo la disidratazione aumentando la capacità di ritenzione idrica della cellula sottoposta a stress da caldo. Inoltre, la betaina ha anche proprietà antinfiammatorie e migliora la funzione intestinale (Wasti et al., 2020). La betaina è sintetizzata attraverso il metabolismo della colina ed agisce funzionalmente come una vitamina o pro-vitamina (Uyanga et al., 2022). La sua integrazione a diversi livelli (1.0, 1.5, 2.0 e 2.5 g/kg) negli animali in stress da caldo apporta effetti benefici contro lo stress osmotico e la disidratazione, diminuendo la mortalità e migliorando i parametri prestazionali come il peso corporeo finale, l'aumento di peso corporeo e l'indice di conversione alimentare (El-Shinnawy, 2015). Estremamente importante è fornire sempre acqua fresca e pulita, meglio se con l'aggiunta

di vitamine A, C ed E che si sono dimostrate utili per aumentare le difese immunitarie, l'efficienza alimentare e ridurre il danno ossidativo (Nawaz et al., 2021). La combinazione di vitamina E (100 mg/kg di mangime), vitamina C (200 mg/kg di mangime) e probiotici (*Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus acidophilus* 2 g/kg di mangime) è risultata efficace per attenuare gli effetti negativi dello stress da calore nei polli da carne in condizioni croniche mostrando migliori performance in termini di incremento di peso, ingestione alimentare, e indice di conversione (Attia et al., 2017). L'aggiunta di bicarbonato di sodio (NaHCO₃) a 4-10 kg/t di mangime aiuta a mantenere l'equilibrio acido-base a seguito di iperventilazione contrastando l'alcalosi respiratoria (Fisinin & Kavtarashvili, 2015). Anche l'addizione di erbe aromatiche come zenzero, finocchio e semi neri di cumino risulta essere utile per ridurre gli effetti negativi dello stress da caldo (Nawaz et al., 2021). Inoltre, l'aspetto fisico e la qualità del mangime è importante, infatti, il mangime pellettato consente ai polli di risparmiare circa il 6% di energia (Fisinin & Kavtarashvili, 2015). L'aggiunta di probiotici (microrganismi vivi che conferiscono benefici alla salute dell'ospite) contrasta lo stress da caldo migliorando la morfologia intestinale, le condizioni fisiologiche generali e le difese immunitarie (Nawaz et al., 2021). In ultima, anche l'integrazione con microalghe si è dimostrata valida aumentando il peso corporeo finale, l'incremento medio giornaliero e l'efficienza alimentare dei polli da carne sottoposti a stress da caldo (Chaudhary et al., 2023).

1.3 Utilizzo delle microalghe nei mangimi zootecnici

L'alimentazione del bestiame richiede un grande apporto energetico e proteico, fornito principalmente attraverso la coltivazione di mais, soia e foraggi. Il processo di produzione delle colture destinate all'alimentazione zootecnica comporta delle gravi conseguenze per l'ambiente come il consumo di suolo, l'utilizzo di ingenti quantità di acqua, la perdita di habitat, la deforestazione e l'emissione di gas climalteranti (Madeira et al., 2017). Inoltre, l'uso di tali ingredienti nei mangimi compete direttamente con l'alimentazione umana. Questo contesto stimola l'industria mangimistica a trovare soluzioni più sostenibili come l'uso di microalghe che non solo apportano nutrienti ma anche composti bioattivi quali acidi grassi, pigmenti, vitamine e minerali (Valente et al., 2021). Nonostante la loro ampia gamma di applicazioni la tecnologia disponibile per la produzione è ancora inefficiente. Inoltre, alcune microalghe eucariotiche sono dotate di parete cellulare particolarmente recalcitrante che sfida la solubilizzazione, risultando poco digeribile da animali monogastrici. Diventa quindi imperativo per l'industria mangimistica sviluppare

tecnologie adeguate per migliorare la biodisponibilità dei nutrienti microalgali negli animali (Madeira et al., 2017). Inoltre, molteplici fattori, quali le specie di microalghe impiegate, le caratteristiche nutrizionali, i livelli di inclusione, la composizione del mangime, le condizioni di stabulazione e di allevamento degli animali causano variabilità dei risultati delle sperimentazioni sull'uso delle microalghe negli alimenti zootecnici.

1.3.1 Composizione e proprietà delle microalghe

La classificazione sistemica delle microalghe si basa principalmente sulla pigmentazione ed è divisa in nove classi di cui le più rilevanti sono *Chlorophyceae* (alghe verdi), *Phaeophyceae* (alghe brune), *Pyrrophyceae* (dinoflagellate), *Chrysophyceae* (alghe brune dorate), *Bacillariophyceae* (diatomee) e *Rhodophyceae* (alghe rosse). Un altro metodo classifica le microalghe in due divisioni procariote (*Cyanophyta* e *Prochlorophyta*) e nove divisioni eucariotiche (*Glaucophyta*, *Rhodophyta*, *Heterokontophyta*, *Haptophyta*, *Cryptophyta*, *Dinophyta*, *Euglenophyta*, *Chlorarachniophyta* e *Chlorophyta*). Di tutte le specie esistenti solo poche risultano essere utili per applicazioni commerciali, come *Spirulina*, *Chlorella*, *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Botryococcus*, *Phaeodactylum* e *Porphyridium*. La maggior parte delle microalghe sono organismi autotrofi fotosintetici, ma esistono anche organismi eterotrofi (Hemaiswarya et al., 2013).

Le microalghe contengono diversi componenti nutrizionali, ad esempio gli acidi grassi omega-3 e omega-6, che sono acidi grassi polinsaturi essenziali a catena lunga (LC-PUFA). Questi risultano utili per la salute animale poiché coinvolti nella produzione di prostaglandine e trombassano, composti biologicamente attivi importanti per la produzione di colesterolo e trigliceridi (Sousa et al., 2008). Tra questi LC-PUFA i più rilevanti risultano essere l'acido docosaesaenoico (DHA, 22:6) e l'acido eicosapentaenoico (EPA, 20:5). L'DHA è importante per la funzione cerebrale-neurologica e, sinergicamente, EPA e DHA favoriscono lo sviluppo fetale, prevengono infiammazioni, malattie cardiovascolari e riducono lo stress ossidativo (Valentine & Valentine, 2004). Microalghe come *Nannochloropsis* sp. e *Phaeodactylum tricornutum* contengono fino al 39% di EPA degli acidi grassi totali, mentre *Schizochytrium limacinum* e *Thraustochytrium* circa il 30-40% (Adarme-Vega et al., 2012). Sul mercato è possibile trovare prodotti animali quali uova di gallina arricchite con DHA e latte vaccino arricchito con n-3 LC-PUFA ottenuti grazie all'integrazione nei mangimi di diverse specie di microalghe (Madeira et al., 2017). Inoltre, le microalghe producono anche altri preziosi acidi grassi essenziali come l'acido alfa-linolenico (ALA), l'acido gamma-linolenico (GLA), l'acido

linoleico (LA) e l'acido arachidonico (ARA) che stimolano i meccanismi di difesa immunitaria contro microrganismi patogeni e la cicatrizzazione dei tessuti danneggiati (Kusmayadi et al., 2021). La *Chlorella vulgaris* contiene circa il 35-40% in peso di contenuto lipidico, con fino al 27% di acido α -linolenico e il 24% di acido linoleico (Freitas, 2017).

Inoltre, le microalghe possiedono il potenziale per produrre mangimi e integratori ad alto valore aggiunto in quanto contengono molecole non biosintetizzabili nel corpo animale come gli aminoacidi essenziali. La frazione proteica delle microalghe risulta essere uguale o addirittura superiore a quella apportata attraverso fonti vegetali convenzionali (Madeira et al., 2017). La *Chlorella* possiede una concentrazione di proteine nel range di 50-60% del peso secco, paragonabile al lievito o alla farina di soia (Kovač et al., 2013). La biomassa secca di *Arthrospira* (spirulina) possiede un contenuto proteico che varia tra il 60% e il 70% del peso secco e fornisce tutti gli aminoacidi essenziali che solitamente rappresentano quasi la metà delle proteine totali (Gutiérrez-Salmeán et al., 2015).

Le microalghe sono, inoltre, un'importante fonte di carboidrati, presenti sotto forma di cellulosa, zuccheri, amido e altri polisaccaridi (Kusmayadi et al., 2021). Grazie alla loro elevata efficienza di fotoconversione, possono accumulare un contenuto di carboidrati fino al 50% del peso secco (Raven & Beardall, 2003). I carboidrati rappresentano la quota in fabbisogno più alta all'interno delle razioni del bestiame in quanto indispensabili per apportare energia agli animali ed ai microbi del rumine. Inoltre, i carboidrati strutturali mostrano un ruolo importante nel mantenere sano il tratto gastrointestinale (Madeira et al., 2017).

Le microalghe sono anche considerate una fonte eccellente di vitamine, fondamentali per il metabolismo energetico, l'immunità, la riparazione dei danni cellulari, l'azione antiossidante, il consolidamento delle ossa e molte altre funzioni (Kusmayadi et al., 2021). Nelle microalghe possono essere ritrovate numerose vitamine quali A, B1, B2, B6, B12, C, E, niacina, nicotinato, biotina e acido folico (Madeira et al., 2017). Ad esempio la *Spirulina* sp presenta la vitamina B12 (127-244 $\mu\text{g/g}$) più elevata rispetto alle fonti alimentari di origine vegetale o animale (Barbosa et al., 2005) e l'*Eisenia arborea*, una specie di microalghe brune, contiene 3,44 mg/g di vitamina C, paragonabile a quella delle arance mandarinate (Hernández-Carmona et al., 2009). In aggiunta nelle microalghe troviamo anche microelementi quali rame, iodio, ferro, potassio e zinco (Madeira et al., 2017).

Infine, nelle microalghe troviamo anche diversi pigmenti, fondamentali nel processo di fotosintesi, i quali sono rappresentati da carotenoidi (liposolubili), clorofille (liposolubili) e ficobilina (idrosolubile) (Begum et al., 2016). I pigmenti sono precursori delle vitamine e possono avere

importanti funzioni per la salute come, l'azione antiossidante, neuroprotettiva ed immunitaria. Tra i più importanti pigmenti troviamo il β -carotene e l'astaxantina che ha la funzione antiossidante e preventiva contro l'arteriosclerosi (Christaki et al., 2015).

1.3.2 Effetto delle microalghe nell'alimentazione degli animali monogastrici

Le microalghe potrebbero rivestire un ruolo interessante nell'alimentazione delle diverse categorie di suini (Figura 6). Diversi studi hanno utilizzato le microalghe come fonte di n-3 PUFA per migliorare il profilo degli acidi grassi dei tessuti e le proprietà immunomodulatorie dell'organismo, al fine di ridurre lo stress post-svezzamento dei suinetti. Ad esempio, *A. platensis* e *C. vulgaris* (entrambi con un'inclusione dell'1%) sono state impiegate come alternative all'integrazione antibiotica per promuovere la salute dell'intestino dei suinetti. Si è notato un aumento dell'altezza dei villi intestinali e la *Chlorella* ha ridotto l'incidenza e la gravità della diarrea (Furbeyre et al., 2018). L'inclusione di *Schizochytrium* JB5 all'1% nelle diete tra 8-21 giorni post-svezzamento pare abbia una tendenza a migliorare l'efficienza alimentare dei suinetti (da 0,715 a 0,726) e l'incremento medio giornaliero. Inoltre, si è notato un aumento e della digeribilità totale per la sostanza secca e la proteina grezza. Questo perché si presume che l'inclusione di basse dosi di microalghe sia efficace per migliorare le prestazioni produttive e la salute intestinale grazie all'aumento di batteri utili come i lactobacilli (Kibria & Kim, 2019). Anche nelle fasi di crescita e finissaggio si è notato un incremento medio giornaliero maggiore di 29 g/giorno, una maggiore digeribilità della sostanza secca ed un incremento delle popolazioni di *Lactobacillus* e di *Escherichia coli* nelle feci dei suini nutriti con 0,1% e 0,2% di *C. vulgaris* fermentata (Yan et al., 2012). I suini da ingrasso, grazie al tratto gastrointestinale più sviluppato, risultano più adatti all'alimentazione con microalghe come fonti di proteine e carboidrati, infatti, la sostituzione della farina di soia fino al 100% con *S. platensis* nelle diete da ingrasso dei suini non ha riscontrato effetti negativi sulla qualità della carcassa o sulle proprietà fisico-chimiche del *Longissimus lumborum*, sebbene l'analisi sensoriale abbia rivelato un aumento del retrogusto astringente. Inoltre, i suini alimentati con *S. platensis* hanno anche mostrato un aumento di acidi linolenici (C18:3 n-3 e C18:3 n-6) nel grasso sottocutaneo (Altmann et al., 2019). Nell'ultima fase di ingrasso di suini pesanti italiani (118-160 kg), l'inclusione alimentare di *Schizochytrium* sp. (0,25% e 0,5%) ha incrementato il DHA nei muscoli (Sardi et al., 2006). Tuttavia, se l'inclusione di *Schizochytrium* sp supera lo 0,6% nella pancetta si sviluppano sapori sgradevoli durante e dopo la cottura, compromettendo l'accettabilità del prodotto da parte dei consumatori a

causa dell'aumento della malondialdeide (originata dall'ossidazione dei lipidi) che conferisce l'odore di pesce (Meadus et al., 2010). Pertanto, nei prodotti trasformati ricchi di DHA, a causa della loro natura ossidativa, è importante considerare il processo di trasformazione utilizzato, in quanto l'ossidazione dei tessuti sviluppa odori indesiderabili e compromette la shelf-life del prodotto (Valente et al., 2021).

Nei verri riproduttori l'uso di microalghe come fonte di DHA (componente importante della membrana dello spermatozoido), in alternativa all'olio e alla farina di pesce, migliora la qualità dello sperma, aumentando il volume dell'eiaculato e il numero di spermatozoi. Tuttavia, rapporti squilibrati di DHA possono causare disfunzioni mitocondriali nei testicoli, effetto collaterale che si potrebbe contrastare grazie all'integrazione di composti antiossidanti come la vitamina E (Andriola et al., 2018). Per quanto riguarda scrofe e scrofette la letteratura suggerisce l'integrazione delle microalghe durante la gestazione e l'allattamento al fine di sfruttare le proprietà immunomodulatorie del DHA per migliorare lo stato immunitario dei suinetti prima e dopo la nascita (Valente et al., 2021).

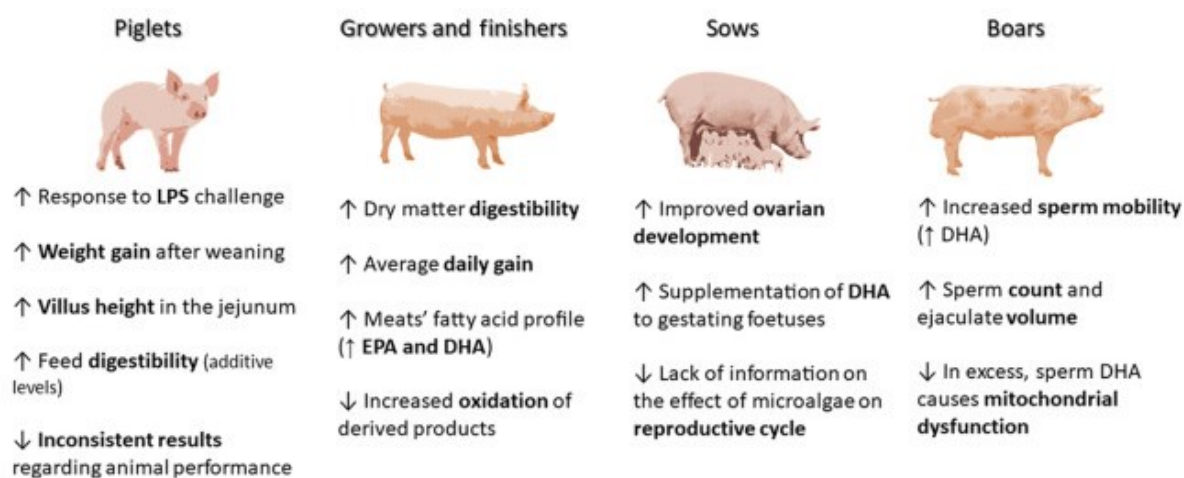


Figura 6. Effetti delle microalghe nella dieta dei suini (Valente et al., 2021)

La maggior parte degli studi riguardanti l'uso di microalghe nella dieta dei conigli promuove il loro uso all'interno dei mangimi al fine di incrementare la salute, il profilo degli acidi grassi della carne, lo stato antiossidativo e la risposta infiammatoria (Figura 7) (Valente et al., 2021). Si è visto che l'inclusione di *Spirulina* durante il periodo di ingrasso (9-13 settimane di età) ha incrementato il consumo di mangime a causa della minore digeribilità della dieta, senza però compromettere l'accrescimento. Inoltre, si è riscontrato un aumento del contenuto lipidico nel grasso perirenale con un profilo acido più ricco in PUFA n-6 e minore in acidi grassi totali n-3, che ha abbassato gli indici

aterogeni e trombogenici (Peiretti & Meineri, 2011). La supplementazione alimentare di *Spirulina* e *C. vulgaris* a livelli del 0,075% e 0,15% nei conigli in crescita ha mostrato che l'integrazione con *Spirulina* migliora le prestazioni di crescita e riduce le attività degli enzimi epatici ed entrambe le microalghe riducono la concentrazione di colesterolo e lipidi totali nel sangue rispetto ai gruppi di controllo (Hassanein et al., 2014).

Come per i suini le microalghe influiscono positivamente sulle prestazioni riproduttive del coniglio. In particolare la *Spirulina* grazie al suo potere antiossidante, protegge le cellule dallo stress ossidativo e migliora la produzione di sperma (Fouda & Ismail, 2017). Per quanto concerne le fattrici la somministrazione di *C. vulgaris* da 200 a 500 mg/kg peso vivo migliora le prestazioni di allattamento e le performance di crescita delle cucciolate (Sikiru et al., 2019).

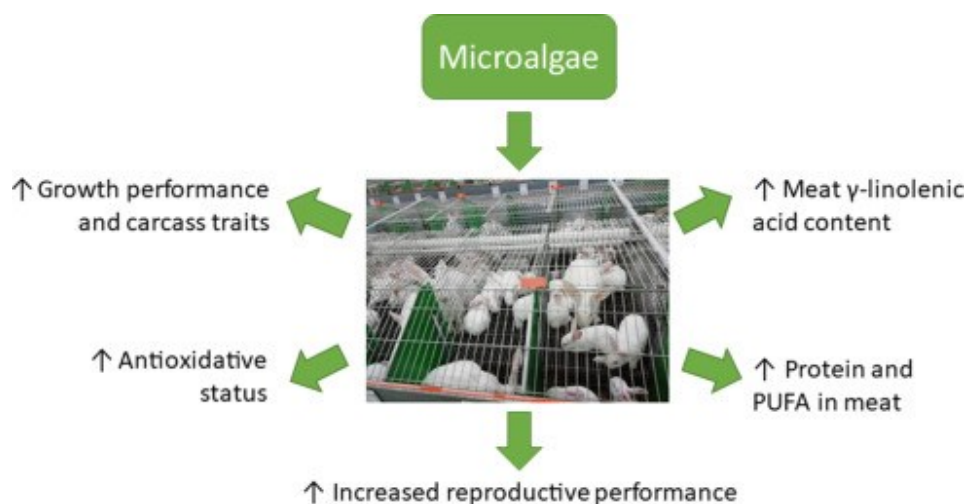


Figura 7. Effetti delle microalghe nella dieta dei conigli (Valente et al., 2021)

Uno studio condotto su conigli bianchi neozelandesi svezzati ha voluto constatare se l'aggiunta di *Spirulina* (1 g/ kg di dieta), nanoparticelle di selenio (50 mg/ kg di dieta), nanoparticelle di zinco (100 mg/ kg di dieta), una miscela di microalga e selenio ed, infine, una miscela tra microalga e zinco potesse avere effetti positivi a contrastare le condizioni delle alte temperature estive rispetto ad una dieta di controllo. I risultati ottenuti hanno dimostrato un aumento significativo del peso corporeo finale, dell'aumento di peso giornaliero ed un rapporto di conversione dei mangimi migliore durante i periodi da 6 a 14 settimane nei conigli trattati rispetto a quelli del gruppo controllo (Bashar et al., 2023). Gli integratori alimentari hanno migliorato notevolmente l'ematologia (globuli bianchi, emoglobina, globuli rossi ed ematocrito) e alcuni tratti della carcassa. Tutti gli integratori alimentari hanno ridotto significativamente i livelli sierici di gliceridi totali e delle transaminasi, migliorando

notevolmente i valori di IgA, IgG e superossido dismutasi. Infine, il cortisolo sierico, l'interferone-gamma e la malondialdeide sono diminuiti (Bashar et al., 2023). Concludendo, l'inclusione di questi additivi nei mangimi, in forma singola o in miscela, possono essere applicati efficacemente per ridurre gli impatti negativi delle condizioni di stress da caldo estivo, mantenendo un buono stato di salute e migliorando la tolleranza al calore nei conigli in crescita (Bashar et al., 2023).

1.3.3 Effetto delle microalghe nell'alimentazione del pollo da carne

Secondo diversi studi le microalghe possiedono il potenziale per essere ampiamente utilizzate nell'alimentazione dei polli da carne, in quanto, in dosi basse possono portare vantaggi in termini di qualità della carne senza influenzare negativamente le prestazioni. Per esempio Evans et al. (2015) hanno constatato che aggiungendo il 16% di *Spirulina* secca commerciale alle diete starter, non si rilevano cali di prestazioni o digeribilità. Al contrario al 21% la gelatinizzazione proteica che avviene durante la pellettizzazione del mangime può causare un aumento della viscosità del contenuto intestinale, ostacolando l'attività enzimatica endogena sul substrato, diminuendo così le prestazioni produttive e la digeribilità proteica (Evans et al., 2015). Invece, livelli di inclusione dell'1% di *S. platensis* hanno comportato un incremento del peso corporeo e dell'indice di conversione (Park et al., 2018). Inoltre, anche negli avicoli, successivamente all'integrazione di *Spirulina* si è notato un aumento della popolazione ciecale di *Lactobacillus* rispetto ai gruppi di controllo, valorizzando la tesi che le microalghe possano essere una buona alternativa all'uso di promotori della crescita antibiotici (Park et al., 2018).

Le microalghe possono essere utilizzate per modificare il colore della carne di pollo, importante caratteristica per il consumatore. Infatti, studi con *S. platensis* hanno evidenziato come la pigmentazione della pelle, del petto e dei muscoli della coscia fossero più intensi, sia nel giallo che nel rosso, rispetto al gruppo di controllo grazie all'accumulo di zeaxantina (Pestana et al., 2020). In termini di qualità della carne, l'aggiunta di *S. platensis* nelle diete dei polli da carne ha diminuito la perdita per gocciolamento del petto dopo 7 giorni di conservazione rispetto alle diete di controllo (Park et al., 2018). Inoltre, pure per gli avicoli, l'aggiunta di 0,5% di polvere di *Spirulina* essiccata ha incrementato le concentrazioni di LC-PUFA come EPA, DPA e DHA nella carne della coscia, senza compromettere altri parametri produttivi (Bonos et al., 2016). La medesima conclusione è stata verificata con l'integrazione di *Schizochytrium* (Yan & Kim, 2013), ma quantità del 7,4% compromettono negativamente le caratteristiche sensoriali e l'accettabilità complessiva della carne

(Ribeiro et al., 2013). Infine, anche l'*Aurantiochytrium limacinum* ricca in DHA, integrata al 0,5% e 5%, migliora significativamente la qualità nutrizionale della carne incrementando il contenuto di omega-3 (Moran et al., 2018).

Per quanto riguarda lo stress termico l'integrazione della dieta con 0,5%, 1% e 2% di *S. platensis* ha avuto un effetto benefico nell'attivazione dello stato antiossidante, riducendo gli ormoni dello stress, migliorando la risposta immunitaria umorale e limitando gli effetti negativi sulle prestazioni (Mirzaie et al., 2018). In un altro studio, la *Spirulina platensis* con integrazione allo 0%, 0,5%, 1% e 1,5% è stata somministrata a broiler esposti a stress da caldo ciclico (34 °C per 8 ore al giorno) e si è visto che l'integrazione dell'1%, ha alleviato gli impatti negativi sull'incremento medio giornaliero, sul peso corporeo finale e sul rapporto di conversione del mangime (Moustafa et al., 2021). I risultati ematologici indicano un aumento dei livelli di emoglobina ed ematocrito, oltre che una riduzione significativa del colesterolo sierico ridotto e delle lipoproteine a bassa densità (LDL) e aumento dei livelli di lipoproteine ad alta densità (HDL). Inoltre, il livello di perossidazione lipidica è stato ridotto, mentre l'attività degli enzimi antiossidanti è stata aumentata. Infine l'integrazione allo 0,5 o 1% ha migliorato la resa della carcassa, del petto e delle cosce (Moustafa et al., 2021).

1.3.4 Impiego della *Chlorella vulgaris* nell'alimentazione delle specie avicole

La *Chlorella vulgaris* è una microalga eucariotica unicellulare d'acqua dolce ed è una delle più prodotte al mondo grazie alla sua facilità di coltivazione e l'elevata produttività della biomassa. La parete cellulare è formata da una complessa matrice di polisaccaridi e glicoproteine insolubili che risulta particolarmente recalcitrante. Per tale motivo solitamente viene processata all'interno di mulini a tallone o apportata con enzimi, in modo tale da rendere più facilmente disponibile i suoi nutrienti anche agli organismi monogastrici (Coelho et al., 2019). Un importante limite legato all'uso su larga scala della *Chlorella vulgaris* è l'elevato costo di produzione, ma studi futuri e nuove soluzioni tecnologiche potrebbero sopperire a tale problema. In letteratura sono presenti un numero relativamente limitato di articoli che studiano in maniera puntuale gli effetti della microalga *Chlorella vulgaris* nell'alimentazione delle specie avicole, tuttavia, pare che il suo utilizzo apporti diversi benefici come già dichiarato per altre microalghe nel paragrafo precedente.

L'integrazione con l'1% di *Chlorella* liquida fresca nell'alimentazione di polli da carne in sostituzione dell'antibiotico, ha apportato benefici alla microflora intestinale, incrementando significativamente la popolazione di *Lactobacillus* nel cieco, ed ha comportato un aumento dell'incremento di peso corporeo rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, ha rafforzato le difese

immunitarie aumentando la concentrazione plasmatica di globuli bianchi, linfociti, IgA, IgM e IgG (Kang et al., 2013). Questo può essere spiegato dal fatto che il β -carotene, le vitamine B2 e B12 ed il β -glucano apportati dalla *Chlorella*, stimolino l'attività delle cellule immunitarie e dei macrofagi aumentando i livelli di interferone, migliorando risposta ad agenti patogeni e proteine estranee (Kang et al., 2013). La *C. vulgaris* si può sostituire fino al 10% alla farina di soia nella dieta dei polli da carne senza comprometterne le prestazioni di crescita, aumentando la colorazione gialla del petto grazie all'incremento del contenuto di clorofilla a, clorofilla b e carotenoidi totali. In aggiunta, l'inclusione del 20% di *C. vulgaris* migliora la capacità di ritenzione idrica, diminuisce le perdite di cottura del petto e all'aumentare della percentuale di inclusione, ha incrementato il contenuto di DHA + EPA e n-3 PUFA. Per quanto riguarda i minerali, la sostituzione della farina di soia con il 15% e il 20% di *C. vulgaris* ha aumentato la quantità di K, Ca, Mg, P e Fe nei muscoli del petto, migliorando la composizione nutrizionale della carne (Boskovic Cabrol et al., 2022).

Infine, anche nelle galline ovaiole l'integrazione con *Chlorella vulgaris* ha apportato benefici aumentando in modo significativo la produzione di uova, l'intensità di colore del tuorlo e l'Haugh Unit. Inoltre, ha diminuito il contenuto di trigliceridi epatici e influenzato positivamente la microflora cecale (Zheng et al., 2012). Nelle galline ovaiole allevate in condizioni di stress da caldo (27,5-36,7 °C) la *Chlorella* è stata integrata a 100, 200, 300, 400 e 500 ppm tramite l'acqua di abbeverata. I risultati di questo esperimento hanno dimostrato che l'integrazione di 200-500 ppm di microalga ha diminuito il contenuto sierico di colesterolo, i trigliceridi e le lipoproteine a bassa densità, mentre il contenuto di lipoproteine ad alta densità è aumentato. Ai tassi di 300-500 ppm si è notato un marcato aumento del contenuto plasmatico di manganese, iodio e selenio concludendo che l'integrazione di *Chlorella* ad alto tasso è stata utile al miglioramento dei parametri ematici delle galline ovaiole allevate sotto stress termico (Moradi kor et al., 2016).

2. OBIETTIVI

Nei prossimi anni l'aumento della popolazione mondiale porterà ad un conseguente incremento della domanda di prodotti di origine animale, soprattutto nei paesi in via di sviluppo. Il processo di produzione delle colture destinate all'alimentazione zootecnica, però, comporta delle gravi conseguenze per l'ambiente come il consumo di suolo, l'utilizzo di ingenti quantità di acqua, la perdita di habitat, la deforestazione e l'emissione di gas climalteranti. Inoltre, l'uso di diversi ingredienti nei mangimi compete direttamente con l'alimentazione umana. In un contesto in cui il cambiamento climatico provocherà ancor di più l'intensificarsi dell'effetto serra e l'aumento delle temperature terrestri, il comparto zootecnico di tutto il mondo si trova ad affrontare numerose sfide in quanto deve necessariamente sopperire all'aumento della domanda, contestualmente contrastare il surriscaldamento globale e l'impatto negativo che le elevate temperature esercitano sul benessere degli animali.

Il settore avicolo apporterà il suo contributo incrementando la produzione in misura maggiore rispetto alle altre carni, grazie al breve ciclo di produzione e all'ottimo indice di conversione alimentare dei polli da carne, che consentono alla filiera di avere un impatto ambientale minore. L'industria mangimistica è fortemente stimolata a trovare soluzioni più sostenibili come l'uso di microalghe ricche in nutrienti e composti bioattivi quali acidi grassi, pigmenti, vitamine e minerali. In aggiunta, l'integrazione nei mangimi con microalghe può avere effetti positivi nella capacità degli animali di resistere allo stress da caldo.

In letteratura non sono presenti studi che analizzino l'effetto dell'uso delle microalghe sul benessere dei polli carne allevati in condizioni di temperature ambientali elevate considerando aspetti legati al comportamento degli animali.

Pertanto, questa tesi si pone come obiettivo il valutare l'effetto dell'integrazione della dieta con microalga *Chlorella vulgaris* su polli da carne ibridi commerciali Ross 308, femmine e maschi, analizzando le risposte comportamentali degli animali in condizioni di termoneutralità e stress da caldo.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Dichiarazione etica

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Animale (Organismo Preposto al Benessere degli Animali, OPBA) dell'Università di Padova, Italia (Progetto 82/2022; Prot. n. 246564, approvato il 19/12/2022). Tutti gli animali sono stati trattati secondo i principi enunciati nella Direttiva CE 2010/63/UE in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali e ad altri scopi scientifici. Il personale di ricerca coinvolto nella manipolazione degli animali era rappresentato da specialisti del settore animale (dottorato di ricerca o master in scienze animali) e da medici veterinari praticanti.

3.2 Strutture, animali, diete e registrazioni *in vivo*

La prova si è svolta presso lo stabulario per avicoli del Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE) presso l'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo" dell'Università degli studi di Padova durante i mesi di ottobre e novembre 2022. L'arrivo degli animali è avvenuto successivamente ad un vuoto sanitario di circa otto mesi. Prima dell'accasamento dei pulcini, la struttura è stata pulita e disinfettata accuratamente.

Il capannone disponeva di due stanze identiche una a nord e l'altra a sud, entrambe dotate di sistema di raffreddamento, ventilazione forzata, riscaldamento radiante, finestre con sistema di oscuramento totale e impianto per il controllo dell'intensità della luce, con effetto alba-tramonto. Ogni stanza era dotata di un data logger (P5185, PeakTech, Prüf-und Messtechnik GmbH Gerstenstieg, Ahrensburg, Germania) posizionato al centro della stanza a circa 30 cm dal suolo per registrare la temperatura e l'umidità relativa durante le 24 ore.

Per la prova sono stati utilizzati 36 recinti di rete metallica di 3 m² (1,20 x 2,50 m, con pareti alte 1,20 m, 18 recinti per stanza). In ogni recinto erano presenti 5 abbeveratoi a goccia con tazzina salva goccia e mangiatoie circolari con un diametro di 37 cm a riempimento manuale collegate a celle di carico per rilevare giornalmente i consumi alimentari. La pavimentazione dei recinti era in cemento pieno, ricoperta da una lettiera di paglia trinciata e truciolo di legno (5 cm di spessore per 2,5 kg/m²), 100% faggio, essiccato, depolverato certificato per assenza di vernici, pesticidi, fertilizzanti e aflatossine.

Prima dell'accasamento dei pulcini gli ambienti di stabulazione degli animali sono stati opportunamente riscaldati fino ad una temperatura ambientale di 26°C; inoltre, nei recinti sono

state installate lampade a infrarossi disposte ad un'altezza tale da garantire 30°C a livello del corpo degli animali. Il programma luce prevedeva 24 ore di luce consecutive nei primi due giorni e un progressivo aumento delle ore di buio a partire dal terzo giorno per raggiungere le 6 ore di buio dai 12 giorni in poi fino alla macellazione commerciale.

Da un incubatoio commerciale sono stati acquistati 600 pulcini Ross 308 di un giorno, metà maschi e metà femmine, consegnati da un camion autorizzato in conformità con il regolamento (CE) n. 1/2005. I pulcini prima della consegna sono stati sessati, separati in base al sesso, e vaccinati all'incubatoio contro la malattia di Marek, la bronchite infettiva e la malattia di Newcastle. Una volta arrivati presso lo stabulario è stata applicata ai pulcini un'etichetta con un numero di identificazione. Gli animali sono stati quindi collocati in maniera casuale in 36 recinti ed in 12 gruppi sperimentali (3 repliche per gruppo) secondo una disposizione tri-fattoriale (*Figura 8*), con tre diete (dieta C0, 94% dieta controllo + 6% di farina di estrazione di soia nazionale; dieta C1, 94% dieta controllo + 3% di farina di estrazione di soia + 3% *C. vulgaris*; e dieta C2, 94% dieta controllo + 6% *C. vulgaris*), due temperature ambientali (normale/termoneutrale o elevata) e due sessi. Ogni recinto era composto da 16 capi per un totale di 576 pulcini. I 24 pulcini rimanenti, 12 per sesso, sono stati collocati in due recinti di riserva per le sostituzioni da effettuare entro i primi giorni della prova per mortalità e/o problemi di salute degli animali. Dei 36 recinti, 18 erano nella stanza nord e 18 nella stanza sud. Nella stanza a sud la temperatura è stata mantenuta in modo da determinare uno stress termico agli animali; nella stanza a nord la temperatura è stata mantenuta a valori nella zona di termoneutralità in modo da creare un ambiente termicamente confortevole per gli animali. Nella stanza a nord la temperatura è stata impostata secondo le raccomandazioni per l'allevamento dei polli da carne prodotte da Aviagen (2018). Gli animali sono stati allevati ad una temperatura sotto cappa di 31± °C per i primi tre giorni, gradualmente ridotti fino a raggiungere 20 °C a 35 giorni di età, mantenuti fino al termine della prova sperimentale. Nella stanza a sud, invece, la temperatura è stata mantenuta a 31±1 °C da 1 a 4 giorni, gradualmente ridotto di 0,5 °C al giorno in modo tale da raggiungere i 28±1 °C al giorno 10. Tale temperatura è stata mantenuta fino a 32 giorni, per poi abbassarla a 27±1 °C da 33 a 39 giorni ed infine, 26±1 °C da 40 giorni fino a fine ciclo (*Figura 9*).

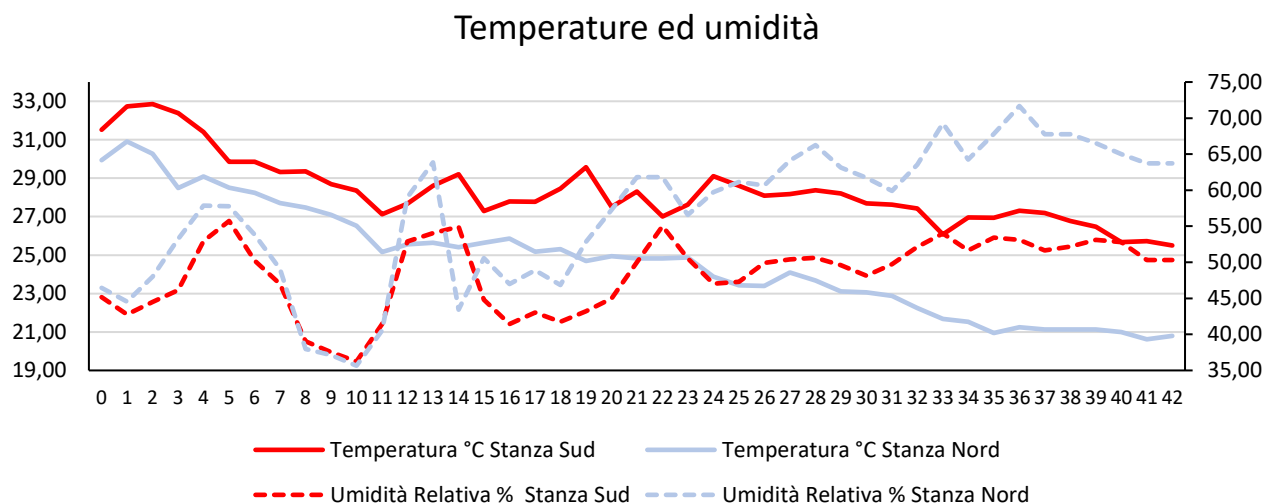


Figura 9. Grafico che riporta le temperature e le umidità di allevamento registrate all'interno delle due stanze dello stabulario da inizio a fine ciclo produttivo

Dopo essere stati collocati nei diversi recinti i pulcini sono stati alimentati con una dieta standard e unica per tutti gli animali per i primi cinque giorni. Quindi, dal sesto giorno e fino alla macellazione (42 d) sono stati alimentati con le tre diete sperimentali precedentemente nominate (dieta C0, dieta C1 e dieta C2) integrate a tre diverse diete di controllo specifiche per diverso periodo di allevamento: da 1 a 14 giorni, da 14 a 28 d e da 28 a 42 giorni.

I risultati delle analisi preliminari di laboratorio attribuivano un contenuto di proteina grezza della farina di soia impiegata per la preparazione dei mangimi pari al 44,3% ed un contenuto di estratto etero del 1,16%. La *Chlorella*, invece, ha mostrato un contenuto di proteina grezza più alto, che si è attestato sul 49,2%, ed un valore inferiore di estratto etero (0,81%). La composizione chimica delle diverse diete per i diversi periodi è riportata nella *Tabella 1*.

Gli animali sono stati pesati individualmente il giorno del loro arrivo e poi una volta alla settimana fino alla macellazione commerciale. La mortalità e il consumo di mangime nel recinto sono stati misurati quotidianamente durante la sperimentazione.

Tabella 1. Composizione chimica delle diete sperimentali e delle materie prime base (f.e. soia, *C. vulgaris*) (Pravato, 2023).

| Periodo di somministrazione | Diete sperimentali | | | | | | | | | Materie prime | |
|-----------------------------|--------------------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|----------------|--------------------|
| | 1-14 d | | | 14-25 d | | | 25-42 d | | | Farina di soia | <i>C. vulgaris</i> |
| | C0 | C3 | C6 | C0 | C3 | C6 | C0 | C3 | C6 | | |
| Sostanza secca, % | 89,9 | 90,3 | 90,5 | 88,3 | 88,3 | 88,51 | 89,1 | 89,1 | 89,4 | 89,7 | 94,4 |
| Proteina grezza, % | 21,0 | 20,2 | 21,2 | 18,3 | 18,8 | 19,1 | 17,9 | 19,0 | 19,3 | 44,3 | 49,2 |
| Estratto etereo, % | 3,79 | 4,02 | 3,97 | 3,87 | 3,98 | 4,18 | 4,44 | 4,66 | 4,61 | 1,16 | 0,81 |
| Amido, % | 32,8 | 32,9 | 35,2 | 34,4 | 35,7 | 36,1 | 38,0 | 35,8 | 36,8 | 3,64 | 8,61 |
| Ceneri, % | 6,65 | 6,57 | 6,73 | 5,91 | 6,13 | 6,34 | 6,39 | 6,09 | 6,57 | 6,71 | 7,49 |
| Minerali (mg/kg) | | | | | | | | | | | |
| Na | 1912 | 1795 | 1789 | 816 | 2722 | 876 | 1775 | 1736 | 1872 | 332,37 | 2345,91 |
| K | 10983 | 9796 | 10070 | 9920 | 9248 | 8682 | 9791 | 9360 | 9399 | 21355 | 8835 |
| Ca | 13057 | 11050 | 11338 | 9600 | 10218 | 10853 | 11475 | 12960 | 13097 | 3508 | 11958 |
| Mg | 2289 | 2139 | 2190 | 2000 | 1909 | 1853 | 1905 | 1936 | 1957 | 3115 | 2186 |
| P | 8295 | 8072 | 8662 | 7432 | 7607 | 7907 | 7168 | 8080 | 8089 | 7025 | 17975 |
| Fe | 258,83 | 333,86 | 311,27 | 193,6 | 225,24 | 259,69 | 263,92 | 275,2 | 303,54 | 170,20 | 1112 |
| Cu | 12,98 | 10,81 | 12,25 | 7,19 | 13,20 | 8,14 | 16,75 | 13,84 | 11,33 | 14,13 | 18,74 |
| Zn | 89,09 | 94,83 | 91,55 | 93,60 | 93,97 | 93,80 | 76,12 | 80,00 | 91,68 | 49,45 | 268,10 |
| Mn | 119,82 | 122,26 | 116,20 | 125,60 | 121,57 | 129,46 | 149,94 | 140,80 | 151,00 | 46,56 | 101,30 |
| S | 2381 | 2484 | 2599 | 2200 | 2364 | 2411 | 2433 | 2552 | 2712 | 3821 | 7388 |

3.3 Rilievi comportamentali

Il comportamento dei polli è stato controllato all'età di 37 giorni, prevedendo la video-registrazione per 24 ore continuative a partire dalle ore 9:00 del mattino del 26/11/2022 fino alle ore 8.45 del giorno seguente. Allo scopo sono state posizionate 20 telecamere ad infrarosso (HDCVI 4MP IR, Dahua Technology Co., Ltd, Cina) su 36 recinti in modo tale da monitorare tutti i recinti in prova (Figura 8). Le riprese sono state salvate su disco rigido mediante videoregistratore digitale (DVR – 32 canali HDCVI, H.265, Dahua Technology Co., Ltd, Cina). Il comportamento degli animali è stato osservato anche durante le ore notturne in quanto la telecamera era dotata di visore notturno. Le osservazioni comportamentali (Tabella 2) sono state suddivise in 6 macrocategorie: statico (appollaiato/riposo, fermo in piedi, appollaiato/riposo zona abbeveratoio); attivo (movimento, camminata, corsa, beccare il pavimento, razzolare); alimentazione (mangiare, bere); stress termico (ansimare – zampa distesa a terra); comfort (self-grooming, stretching, bagno di sabbia); interazioni (allogrooming, aggressione). Un' ulteriore distinzione è stata effettuata per la posizione dell'animale (eretti, seduti). La lettura dei dati di comportamento è stata effettuata analizzando il

comportamento dei singoli animali con osservazioni di 10 secondi ogni 15 minuti per ogni recinto e per 24 ore (totale 3456 campionamenti) seguendo la metodologia “scan sampling”. Per ogni osservazione sono stati misurati: numero di polli presenti nel recinto oggetto di osservazione, numero di polli impegnati nell’assunzione di mangime o di acqua, numero di polli che manifestavano comportamenti diversi dall’alimentazione o dall’abbeverata, considerando ogni comportamento come esclusivo (ogni pollo poteva esercitare solo un comportamento). I comportamenti considerati sono stati ricavati sulla base delle indicazioni bibliografiche disponibili per studi simili già effettuati nel pollo da carne (Nielsen et al., 2011) e sono descritti in dettaglio nella *Tabella 2*. Esempi di rilevazioni comportamentali, a diverse fasce orarie, sono riportati nella *Figura 10* e *Figura 11*. Va inoltre precisato che la variabile “appollaiato/riposo zona abbeveratoio” è stata attribuita ai soggetti che manifestavano tali comportamenti all’interno di un’area prossima all’impianto di abbeveraggio, fino alla distanza massima di un pollo e mezzo dal sistema, come illustrato e precisato in *Figura 12*. I dati raccolti manualmente sono poi stati trascritti su supporto elettronico e quindi utilizzati per l’analisi statistica.

Tabella 2. Categoria e descrizione dei comportamenti osservati

| COMPORTAMENTO | | DESCRIZIONE |
|----------------|---|--|
| STATICO | <i>Appollaiato/riposo</i> | Posizione coricata, la regione ventrale del corpo è a contatto con il pavimento |
| | <i>Fermo in piedi</i> | Il corpo è in linea con il suolo, la testa è eretta e gli occhi sono aperti, solo i piedi sono a contatto con il pavimento |
| | <i>Appollaiato/riposo abbeveratoio</i> | Posizione coricata, la regione ventrale del corpo è a contatto con il pavimento nella zona dell’abbeveratoio |
| ATTIVO | <i>Camminata</i> | Muove più di tre passi |
| | <i>Corsa</i> | I movimenti delle gambe sono più veloci della camminata |
| | <i>Beccare il pavimento</i> | Becca il pavimento (compresa l’alimentazione del mangime) |
| | <i>Razzolare</i> | Razzola nel terreno ed effettua uno o due passi indietro |
| ALIMENTAZIONE | <i>Mangiare</i> | Becca all’interno della mangiatoia |
| | <i>Bere</i> | Becca l’abbeveratoio nipple |
| STRESS TERMICO | <i>Ansimare – zampa distesa a terra</i> | Mostra un respiro veloce e affannoso con il becco aperto e le ali distanziate dal corpo o la zampa estesa a terra |
| COMFORT | <i>Sbattere le ali</i> | Sbatte le ali vigorosamente mantenendo il collo e le gambe tese |
| | <i>Self-grooming</i> | Usa il becco per pulire le piume delle ali e le parti del corpo (autopulizia) |
| | <i>Stretching</i> | Effettua una lenta estensione di alcune parti del corpo (ali e zampe) |
| | <i>Bagno di sabbia</i> | Movimenti tipici per la costituzione del bagno di sabbia |
| INTERAZIONI | <i>Allogrooming</i> | Usa il becco per pulire le piume delle ali e il corpo di un conspecifico |
| | <i>Aggressione</i> | Becca la testa o il collo di un conspecifico |



Figura 10 Telecamera 7 che inquadra a sx il box 12 (maschi con dieta C2) e a dx il box 13 (femmine con dieta C0)



Figura 11 Telecamera 7 che inquadra a sx il box 12 (maschi con dieta C2) e a dx il box 13 (femmine con dieta C0)



Figura 12 Telecamera 9 che inquadra a sx il box 15 (femmine con dieta C1) e a dx il box 13 (maschi con dieta C1) e relative aree dove viene attribuito il comportamento “appollaiato/riposo zona abbeveratoio” se l’animale è all’interno di esse con almeno il 50% del corpo

3.4 Analisi statistica

Per motivi legati all’inquadratura delle telecamere che lasciava degli angoli ciechi non è stato possibile identificare per ogni rilievo tutti gli animali presenti nei singoli recinti, infatti, sul totale dei campionamenti sono stati riconosciuti ed assegnati in maniera puntuale i comportamenti del 90,02% dei soggetti. Per questo motivo i dati raccolti sono stati espressi in percentuale del numero di animali che manifestavano i singoli comportamenti rispetto al numero totale di polli rilevati per recinto e analizzati con un modello misto generalizzato, utilizzando la procedura PROC GLIMMIX del SAS e considerando dieta, temperatura, sesso, fascia oraria e loro interazioni come effetti fissi. Il recinto è stato inserito nel modello come effetto random ed il peso vivo degli animali è stato usato come covariata. In fase di elaborazione dati è stata inserita la categoria “stress - appollaiato/riposo abbeveratoi” all’interno della macrocategoria stress termico che rappresenta l’insieme degli individui che sono stati riconosciuti in stress da caldo e degli individui coricati nell’area degli abbeveratoi.

Le differenze tra le medie con $P < 0,05$ sono state considerate statisticamente significative.

Ove necessario, le medie stimate sono state confrontate utilizzando il test di Bonferroni.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Prestazioni produttive

4.1.1 Effetto della dieta

La valutazione delle prestazioni produttive è stata oggetto di studio del progetto di Tesi di Laurea Magistrale di Pravato (2023). Complessivamente, al termine della prova, è stato rilevato un peso vivo medio finale maggiore nella dieta C1 con 2495 g (*Figura 13a*), rispetto agli animali alimentati con le diete C0 e C2 (2458 g e 2387 g, rispettivamente; $P < 0,001$). Quanto riscontrato sul peso è stato confermato anche dai dati relativi all'accrescimento, che attribuiscono in tutto il periodo sperimentale il valore maggiore agli animali alimentati con la dieta C1 (*Figura 13b*) rispetto a quelli alimentati con le altre diete ($P < 0,001$). Anche il consumo alimentare, conseguentemente, è risultato maggiore ($P < 0,001$) nei polli alimentati con dieta C1 rispetto a quelli alimentati con la dieta C0 e la dieta C2 (104,3 g/d per il gruppo C1 vs 103,5 g/d e 99,4 g/d per C0 e C2, rispettivamente; *Figura 13c*). D'altra parte, l'indice di conversione non è risultato diverso nei polli sottoposti ai diversi trattamenti sperimentali.

4.1.2 Effetto della temperatura

Per quanto concerne la diversa temperatura ambientale delle due stanze, in tutto il periodo non sono state misurate differenze nel peso degli animali, né nell'accrescimento né nell'indice di conversione alimentare. Al contrario, solo il consumo alimentare è stato superiore per gli animali stabulati nella stanza con temperatura ambientale normale (104 g/d vs. 101 g/d con $P = 0,001$) (*Figura 13d*).

4.1.3 Effetto del sesso

In quanto al sesso, i maschi alla macellazione a 42 giorni hanno presentato un peso vivo maggiore rispetto alle femmine (2656 g vs. 2237 g con $P < 0,001$) (*Figura 13e*). Similmente anche l'accrescimento (57,5 g/d vs 56,8 g/d) e il consumo medio giornaliero (108,3 g/d vs 96,5 g/d) (*Figura 13f*) sono risultati significativamente maggiori ($P < 0,001$) nei maschi rispetto alle femmine, mentre l'indice di conversione alimentare è risultato simile.

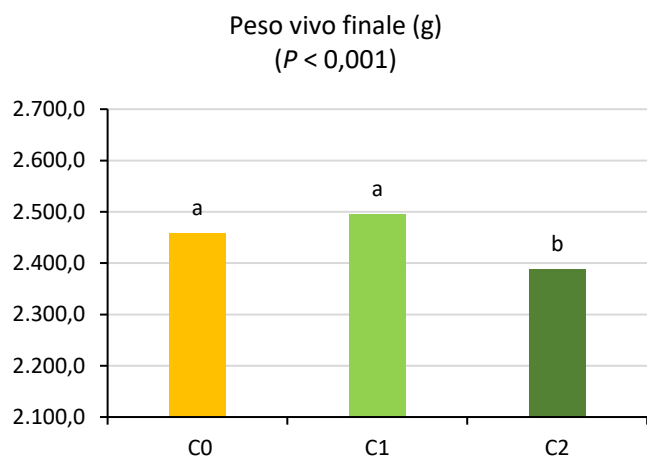


Figura 13a. Peso vivo finale delle tre diete a confronto

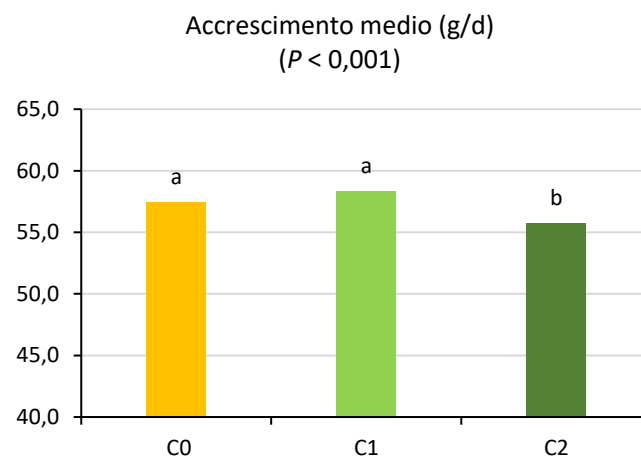


Figura 13b. Accrescimento medio giornaliero delle tre diete a confronto

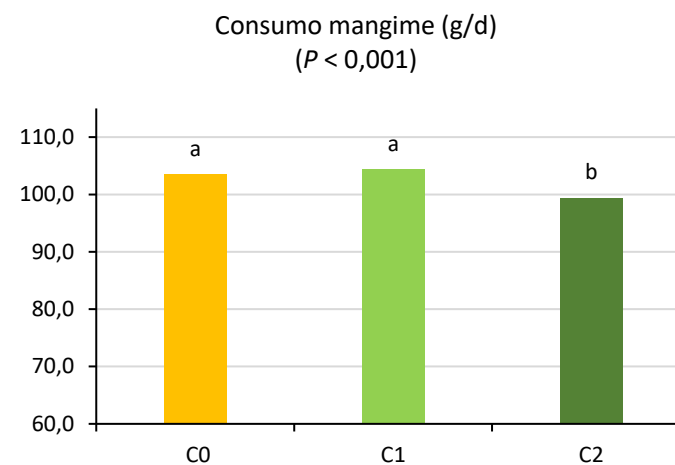


Figura 13c. Consumo giornaliero di mangime delle tre diete a confronto

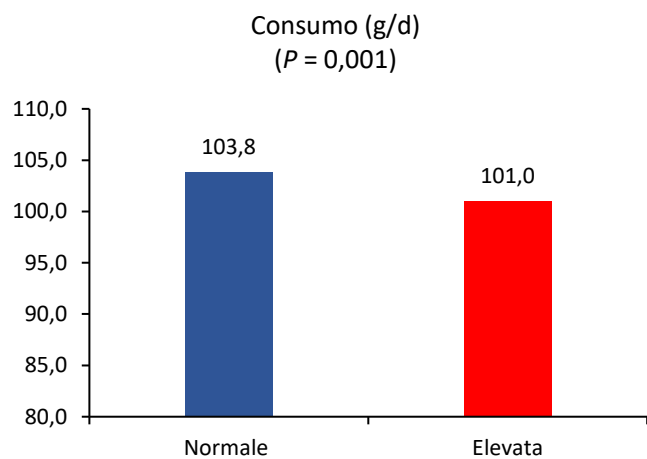


Figura 13d. Consumo medio giornaliero a temperatura normale ed elevata

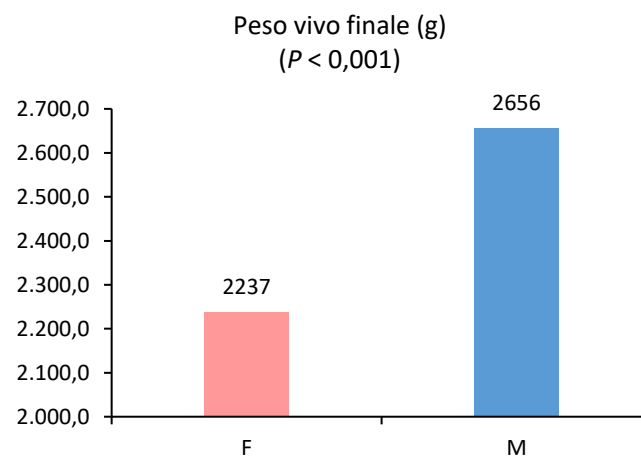


Figura 13e. Peso vivo finale dei due sessi

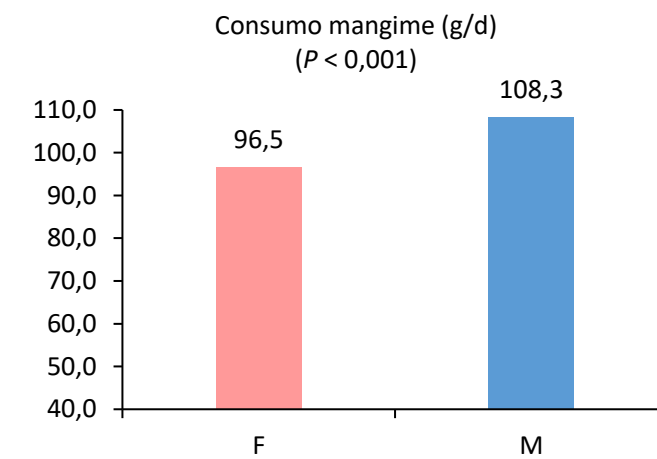


Figura 13f. Consumo giornaliero di mangime dei due sessi

4.2 Risultati comportamentali

L'analisi dell'espressione comportamentale risulta estremamente importante al fine di ricavare informazioni utili per valutare il grado di benessere dell'animale. Nel caso specifico di questo studio è stata esaminata la differente manifestazione dei comportamenti in relazione a diverse variabili, ovvero dieta, temperatura ambientale, sesso, fascia oraria e l'interazione tra di esse, al fine di verificare se l'integrazione della microalga *Chlorella vulgaris* all'interno della dieta potesse mitigare lo stress da caldo.

Come si può notare dalla *Figura 14* l'integrazione della microalga nella dieta condiziona in maniera significativa la frequenza di animali in posizione eretta e seduta. Si ritiene importante precisare che all'interno della categoria "animali in posizione eretta" vengono inclusi non solo gli animali che si mostrano "fermi in piedi", ma anche tutti gli animali che svolgono qualsiasi attività di movimento in tale posizione. Stesso concetto è valido anche per gli "animali in posizione seduta", che rappresentano l'insieme di tutti gli individui coricati sia appollaiati che intenti a svolgere attività in suddetta posizione.

Notoriamente gli ibridi commerciali Ross 308 trascorrono gran parte del proprio tempo (dal 76% all'86%) in posizione seduta a causa di problemi muscolo-scheletrici che rendono gli arti deboli. Inoltre, la posizione coricata attiva o dormiente è associata alla conservazione dell'energia, al ripristino dei tessuti ed alla crescita, in quanto l'animale investe più risorse nell'accrescimento rispetto al mantenimento. Anche per questo motivo i polli da carne a crescita rapida riposano e dormono più di altri polli e quindi incorrono in un rischio più alto di essere vulnerabili a lesioni cutanee (Weeks et al., 2000). Nel presente studio si è notato che all'aumentare della concentrazione di microalga all'interno della dieta è incrementata la percentuale di animali in posizione eretta (*Figura 14a*) passando da 19,6% con la dieta C0 a 20,5% e 21,9% rispettivamente delle diete C1 e C2 ($P = 0,008$). Viceversa, gli individui in posizione seduta (*Figura 14b*) diminuiscono all'aumentare dell'integrazione di *Chlorella* da 80,4% con C0 a 79,5% e 78,1% con C1 e C2 ($P = 0,008$). Da questi dati si può ipotizzare che la microalga abbia un effetto benefico sul rafforzamento degli arti e quindi sul prevenire le patologie derivate dall'eccessivo coricamento degli animali.

Per quanto riguarda la temperatura ed il sesso (*Figura 14c*, *Figura 14d*, *Figura 14e* e *Figura 14f*) si sono dimostrate variabili non significative nel condizionare la posizione (in piedi o seduti) in cui i polli esplicavano i vari comportamenti.

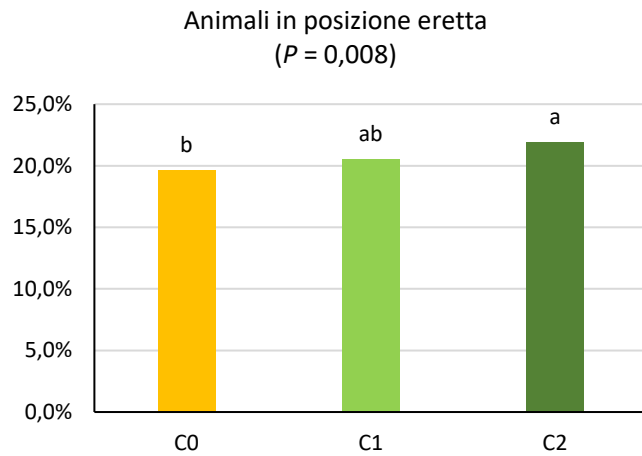


Figura 14a. Animali in posizione eretta delle tre diete a confronto

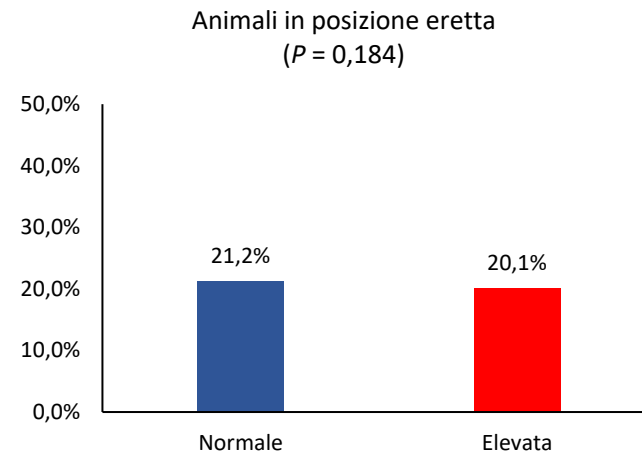


Figura 14c. Animali in posizione eretta a temperatura normale ed elevata

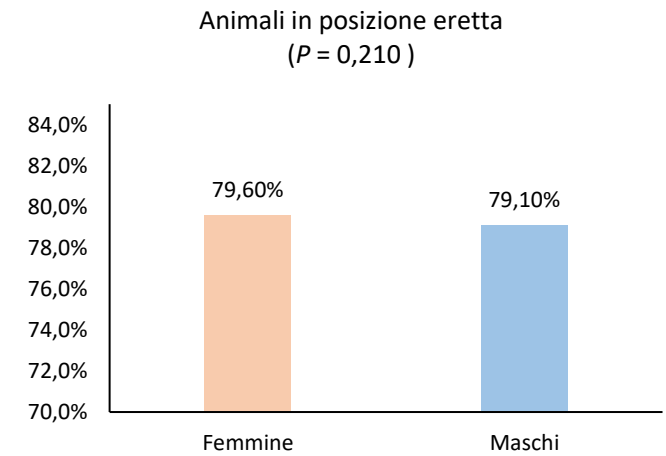


Figura 14e. Animali in posizione eretta nei due sessi

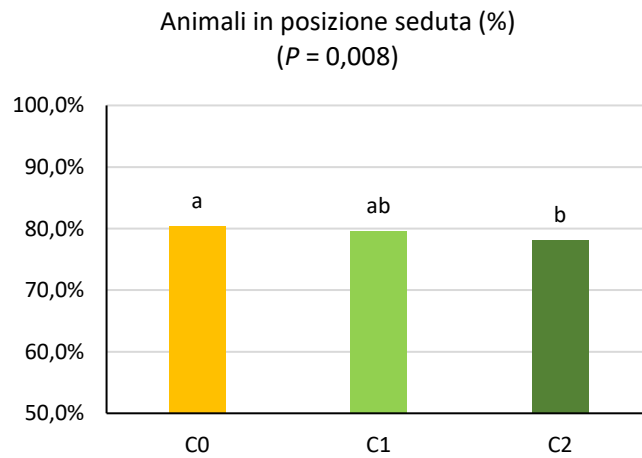


Figura 14b. Animali in posizione seduta delle tre diete a confronto

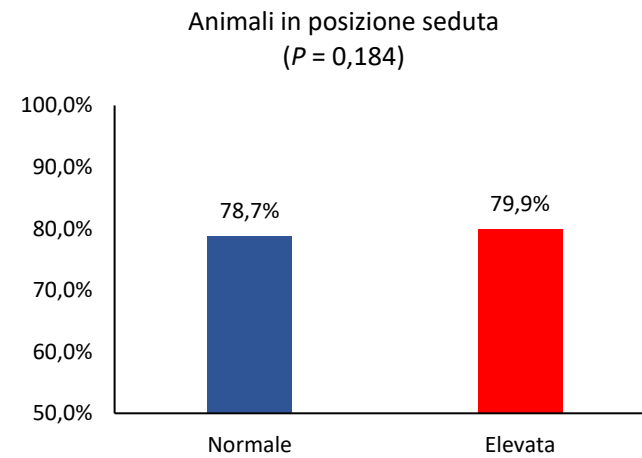


Figura 14d. Animali in posizione seduta a temperatura normale ed elevata

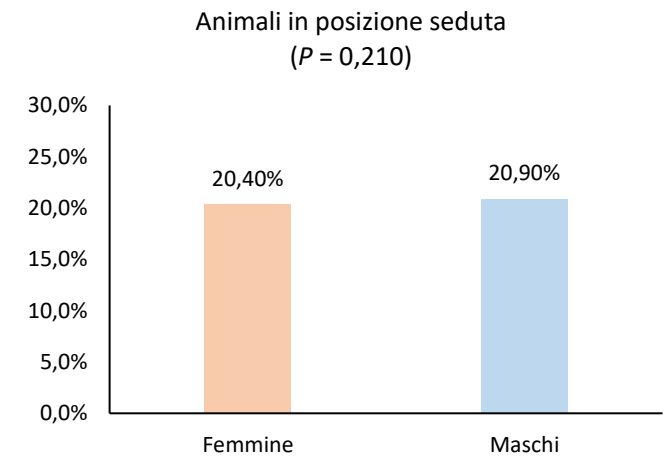


Figura 14f. Animali in posizione seduta nei due sessi

4.2.1 Effetto della dieta

Come si evince dalla *Tabella 3* l'effetto della dieta è risultato significativo su diversi comportamenti analizzati.

L'alimentazione, considerata come l'insieme di animali che si nutrono in mangiatoia ed abbeverano all'abbeveratoio, risulta essere fortemente vincolata dal tipo di dieta, infatti all'aumentare della concentrazione di microalga, aumenta conseguentemente la frequenza dei comportamenti ($P = 0,008$) passando da 13,6% con C0, a 14,9% con C1 fino a 15,5% con C2. In particolare, questo effetto è correlato al comportamento di ingestione alimentare (7,25% C0, 8,89% C1 e 9,22% C2; $P < 0,001$). L'aumento di frequenza degli animali in mangiatoia può trovare spiegazione nella minor appetibilità della razione contenente le microalghe (Kang et al., 2013). Considerando anche i dati relativi alla quantità di mangime ingerito, si può ipotizzare che i polli alimentati con diete meno appetibili (integrate con microalga) facciano un maggior numero di pasti al giorno, ma più piccoli rispetto a quelli degli animali alimentati con la dieta C0, probabilmente più appetibile rispetto a quelle integrate con *Chlorella*.

Per quanto concerne lo "stress termico", variabile comportamentale principale su cui si basa l'interesse di questo studio, si è notato un effetto significativo ($P = 0,005$) della microalga nell'attenuare la manifestazione di comportamenti caratteristici di tale condizione. Infatti, l'integrazione al 6% di *Chlorella vulgaris* ha ridotto significativamente la percentuale di animali che manifestavano i comportamenti tipici di stress da calore (ansimare) rispetto all'integrazione al 3% e alla dieta di controllo. In aggiunta, le alte temperature ambientali alterano l'attività del sistema neuroendocrino, con conseguente attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene che causa elevate concentrazioni di corticosterone nel plasma (Nawaz et al., 2021). A questo proposito, Souza Queiroz et al. (2016) hanno osservato che la *Chlorella vulgaris* somministrata oralmente nei topi, diminuisce l'impatto dei fattori di stress riducendo significativamente l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, limitando l'espressione genica della sintesi dell'ormone rilasciante corticotropina (CRH) da parte dell'ipotalamo e conseguentemente condizionando la risposta da parte dell'ipofisi nel rilascio di ormone corticotropo (ACTH) correlato alla produzione di corticosterone (ormone dello stress). Per questo motivo gli animali nutriti con microalga *Chlorella* hanno manifestato una minor frequenza nei comportamenti caratteristici dello stress da caldo, come ansimare e ali sollevate.

A supporto delle argomentazioni appena descritte in *Figura 15* è riportato il grafico con le rilevazioni delle temperature rettali degli animali al trentanovesimo giorno di età. Come si può evincere, all'aumentare dell'integrazione della microalga, diminuisce progressivamente la

temperatura corporea degli animali, che passa da 41,7 °C negli esemplari alimentati con la dieta C0, a 41,6 °C e 41,5 °C in quelli alimentati rispettivamente con le diete C1 e C2 ($P < 0,05$). D'altra parte, gli animali alimentati con la dieta C2 hanno ingerito una quantità di mangime minore rispetto agli altri che potrebbe generare un rallentamento dell'attività metabolica e una diminuzione della temperatura corporea.

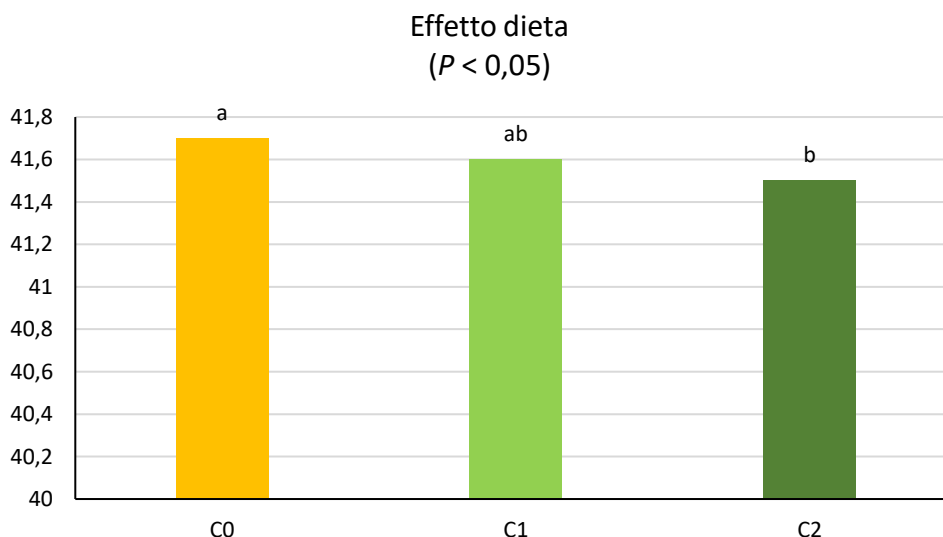


Figura 15. Effetto della dieta sulla temperatura rettale dei polli a 39 giorni di età

La mitigazione degli effetti legati allo stress dal caldo è in parte dimostrata anche dal significativo ($P = 0,002$) aumento della frequenza dei comportamenti della macrocategoria "comfort" ed in particolar modo per il comportamento "self-grooming" che aumenta da 6,42% con la dieta C0, a 7,15% con C1 e 7,29% con C2 ($P = 0,006$).

4.2.2 Effetto della temperatura

La temperatura è risultata la variabile che più di tutte è stata in grado di condizionare in maniera importante il maggior numero di comportamenti presi in considerazione.

La macrocategoria "statico" (Tabella 3) risulta essere significativamente influenzata dall'effetto della temperatura ($P = 0,021$), in quanto, quando questa è elevata, si ha una frequenza del comportamento del 62,9% contro il 60,6% di quando è normale. I singoli comportamenti di questa categoria che si sono dimostrati significativi ($P < 0,001$) risultano essere l'"appollaiato/riposo" con la percentuale più alta rappresentata dagli animali nella stanza a temperatura normale (54,4% vs 49,3%). Questo perché in questa categoria vengono esclusi gli individui che manifestano il comportamento "appollaiato/riposo all'abbeveratoio" che di fatto risulta maggiormente espresso

nella stanza a temperatura elevata (12,3% vs 4,63%) con $P < 0,001$. Il comportamento appollaiato è peculiare dei polli da carne (Bizeray et al., 2002) in quanto la forte selezione genetica effettuata per migliorare le prestazioni produttive degli ibridi commerciali ha fatto sì che l'animale destini gran parte delle sue energie alla crescita, limitando l'espressione di diversi comportamenti, soprattutto se dispendiosi in termini di risorse energetiche come il movimento (Van der Waaij, 2004). Inoltre, la condizione stressante derivata dall'elevata temperatura ha aumentato in maniera significativa la sua frequenza, poiché l'animale appollaiato a terra agevola lo scambio termico per conduzione con la lettiera che generalmente presenta una temperatura inferiore rispetto a quella corporea (Branco et al., 2020). Nel caso specifico di questo studio, avendo considerato anche la variabile "appollaiato/riposo all'abbeveratoio", questa tesi è ulteriormente avvalorata in quanto la lettiera prossima all'impianto di abbeverata è probabile che sia più fresca ed umida.

La "beccata al suolo", comportamento di ricerca associato ad un animale curioso, interessato ed esplorativo dell'ambiente, è stato maggiormente frequente ($P = 0,017$) nella stanza a Nord (7,42%), piuttosto che nella stanza a Sud (5,94%).

Uno dei meccanismi adattivi per ridurre al minimo la produzione di calore metabolico è limitare l'ingestione di alimento (Lara & Rostagno, 2013). Nella presente prova è stato osservato che il numero di animali alla mangiatoia, intenti a svolgere l'attività "mangiare" appunto, si è dimostrata significativamente ($P = 0,001$) maggiore nella stanza a temperatura normale con una frequenza del 9,19% contro il 7,75% della stanza ad elevata temperatura.

Come ci si aspettava, la temperatura ha influito in maniera marcata ($P < 0,001$) sulla manifestazione dei comportamenti riconducibili allo stress da caldo come l'iperventilazione, le ali sollevate e la zampa distesa al suolo. Infatti, tali espressioni si sono rilevate maggiormente nella stanza a sud rispetto a quella a nord (7,18% vs 4,93%). Quando la temperatura dell'aria si avvicina alla temperatura della superficie corporea dei polli da carne la perdita di calore viene ostacolata ed entrano in gioco meccanismi alternativi in quanto gli avicoli sono sprovvisti di ghiandole sudoripare (Liu et al., 2020). Attraverso il *panting* (ansimare), effettuato anche aprendo il becco, si ha un aumento importante della frequenza respiratoria che incrementa in maniera significativa la perdita di calore per evaporazione (Fedde, 1998). Sollevando le ali i polli allevati in condizioni di stress da caldo aumentano la loro superficie corporea ed espongono a contatto con l'aria aree meno isolate dal piumaggio dissipando il calore (Cartoni Mancinelli et al., 2023) per convezione ed irradiazione. Inoltre, estendendo la zampa al suolo in posizione coricata, l'animale espone la zona inguinale interessata da un importante flusso sanguigno a contatto con la lettiera agevolando la dispersione

per contatto. Avvalorando le argomentazioni esposte precedentemente, considerando congiuntamente il comportamento “stress termico” ed “appollaiato/riposo abbeveratoi”, si evidenzia un incremento consistente e significativo ($P < 0,001$) nella frequenza di questi comportamenti registrati nella stanza calda, arrivando ad un valore di 19,5%, ovvero più del doppio di quelli rilevati nella stanza a temperature normale (9,56% in media).

Un’ ulteriore prova, che conferma quanto appena descritto, viene dalle rilevazioni delle temperature rettali degli animali in funzione delle temperature ambientali (Figura 16). Infatti, si può notare come nella stanza a temperatura normale la temperatura corporea media sia stata di 0,6 °C in meno rispetto a quella calda.

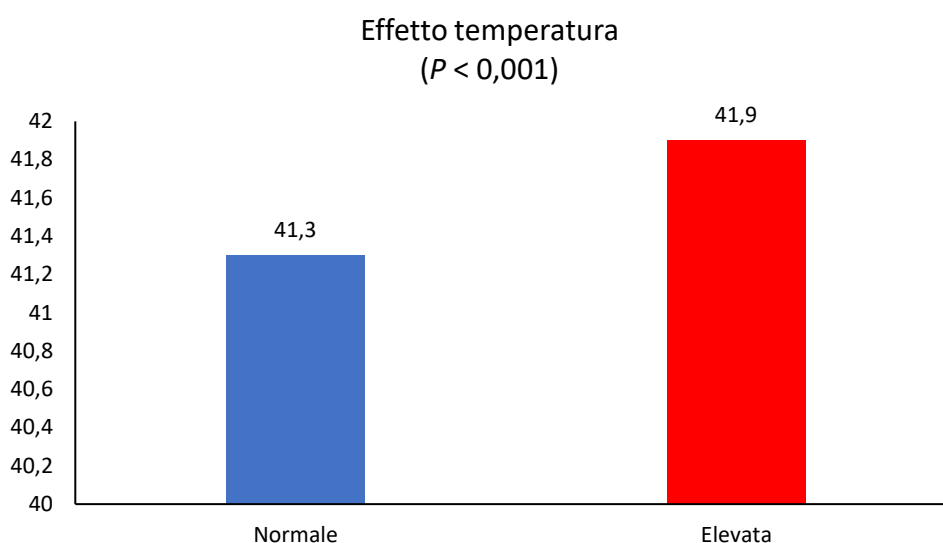


Figura 16. Effetto della diversa temperatura di allevamento sulla temperatura rettale dei polli

Le aspettative sono state confermate anche per quanto riguarda i comportamenti legati al “comfort”. La variabile temperatura si è mostrata significativa ($P < 0,001$) con una frequenza inferiore nella stanza a sud 7,67% rispetto a quella a nord 10,0%. Il comportamento di comfort che si è dimostrato più significativo ($P < 0,001$) è il “self-grooming”, estremamente importante per la pulizia e manutenzione della livrea del piumaggio, con una frequenza del 5,92% nella stanza calda, contro l’8,03% della stanza a temperatura normale.

Infine, anche le “interazioni” tra animali sono state condizionate dalla variabile temperatura risultando maggiori in particolare per la categoria “allogrooming” nella stanza nord rispetto alla sud (0,34% vs 0,20 con $P = 0,009$). Questo effetto dimostra che a temperature ottimali l’animale è in omeostasi e tende a effettuare più interazioni sociali positive.

4.2.3 Effetto del sesso

Come considerato nella sezione relativa alle prestazioni produttive, il sesso ha influito in maniera importante sul peso corporeo, il quale può essere collegato indirettamente alle risposte comportamentali e quindi al diverso grado di benessere dell'animale. In questo studio è stato possibile identificare differenze significative tra i due sessi (*Tabella 3*), manifestatesi in diversi comportamenti.

I dati relativi alla maggior frequenza del comportamento "mangiare" vedono una maggior presenza alla mangiatoia degli individui di sesso maschile (15,3%) rispetto al femminile (14,1%) avvalorando i dati illustrati nella sezione "prestazioni produttive" relativi alla maggiore ingestione giornaliera ($P = 0,019$).

A causa del loro peso maggiore (+ 419 g) gli individui maschi si sono dimostrati più vulnerabili allo stress da caldo, avendo una frequenza della manifestazione dei comportamenti del 6,82% rispetto al 5,34% del sesso femminile ($P = 0,002$). Ciò è supportato anche dal fatto che rispetto alle femmine si abbeverino di più (6,55% vs 5,90% con $P = 0,031$) e, come riportato da Lara & Rostagno (2013), i due comportamenti sono strettamente correlati all'aumentare delle temperature.

Per quanto concerne il macrocomportamento "statico" si è notata una maggiore frequenza da parte delle femmine rispetto ai maschi (62,7% vs 60,8%, rispettivamente; $P = 0,043$). Questo può essere spiegato da una maggior vivacità e attività che notoriamente gli animali di genere maschile possiedono. Questa teoria è in accordo con quanto riscontrato nello studio di Dawson et al. (2021) che ha notato una maggior inattività da parte degli individui femminili (Dawson et al., 2021).

Anche le "interazioni", se pur rilevate con una bassissima frequenza, mostrano una maggior percentuale da parte dei maschi che effettuano "allogrooming", rispetto alle femmine (0,35% vs 0,19%, rispettivamente; $P = 0,009\%$).

Tendenza diversa invece viene mostrata per i comportamenti di comfort, in cui le femmine sono impegnate in media per il 9,18% rispetto all'8,46% dei maschi ($P = 0,009$).

Particolarmente rilevante risulta il "self grooming" che le femmine effettuano in maggior frequenza (7,17% vs 6,74%; $P = 0,025$).

Tabella 3. Analisi del comportamento dei polli a 37 giorni di età in funzione di: dieta (C0; C1; C2), temperatura e sesso. Dati (media ± deviazione standard) espressi come % del numero di animali rilevati.

| | Dieta (D) | | | Temperatura (T) | | Sesso (S) | | P-value | | | | | |
|---|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|------------|-------------|-----------|------------------|------------------|--------------|------------------|--------------|--------------|
| | C0 | C1 | C2 | Normale | Elevata | Femmine | Maschi | D | T | S | D×T | D×S | T×S |
| Statico | 62,4±24,6 | 61,4±23,9 | 61,4±25,1 | 60,6±25,2 | 62,9±23,9 | 62,7±24,4 | 60,8±24,6 | 0,280 | 0,021 | 0,043 | <0,001 | 0,194 | 0,314 |
| Appollaiato/riposo | 53,0±25,1 | 51,7±22,9 | 50,8±25,0 | 54,4±26,0 | 49,3±22,5 | 52,9±24,8 | 50,7±26,0 | 0,068 | <0,001 | 0,195 | <0,001 | 0,608 | 0,040 |
| Fermo in piedi | 1,50±4,69 | 1,26±3,62 | 1,44±3,73 | 1,53±4,56 | 1,28±3,47 | 1,48±4,37 | 1,32±3,68 | 0,550 | 0,306 | 0,824 | 0,951 | 0,929 | 0,222 |
| Appollaiato/riposo abbeveratoi | 7,96±8,65 | 8,48±8,21 | 9,16±9,67 | 4,63±6,74 | 12,3±9,07 | 8,33±8,69 | 8,75±6,74 | 0,461 | <0,001 | 0,896 | 0,466 | 0,831 | 0,278 |
| Attivo | 8,65±9,71 | 8,33±9,34 | 8,18±9,06 | 9,00±9,97 | 7,79±8,71 | 8,45±9,54 | 8,33±9,97 | 0,778 | 0,113 | 0,436 | 0,010 | 0,249 | 0,083 |
| Movimento | 1,50±3,81 | 1,61±4,03 | 1,54±3,68 | 1,47±3,93 | 1,63±3,75 | 1,56±3,94 | 1,54±3,93 | 0,823 | 0,201 | 0,931 | 0,025 | 0,395 | 0,320 |
| Camminata | 1,41±3,68 | 1,55±3,95 | 1,43±3,51 | 1,36±3,76 | 1,56±3,67 | 1,46±3,79 | 1,46±3,76 | 0,648 | 0,181 | 0,721 | 0,024 | 0,502 | 0,400 |
| Corsa | 0,10±0,86 | 0,07±0,85 | 0,11±0,93 | 0,11±1,00 | 0,07±0,74 | 0,10±0,96 | 0,08±1,00 | 0,082 | 0,993 | 0,029 | 0,807 | 0,212 | 0,384 |
| Beccata suolo | 6,91±8,57 | 6,61±8,38 | 6,49±8,07 | 7,42±9,04 | 5,94±7,54 | 6,73±8,48 | 6,60±9,04 | 0,704 | 0,017 | 0,332 | 0,038 | 0,388 | 0,127 |
| Razzolare | 0,24 ^a ±1,42 | 0,11 ^b ±0,96 | 0,16 ^{ab} ±1,13 | 0,12±1,00 | 0,22±1,35 | 0,15±1,13 | 0,18±1,00 | 0,047 | 0,086 | 0,251 | 0,501 | 0,813 | 0,741 |
| Alimentazione | 13,6 ^b ±14,7 | 14,9 ^{ab} ±15,4 | 15,5 ^a ±15,8 | 15,1±16,4 | 14,3±14,1 | 14,1±15,1 | 15,3±16,4 | 0,008 | 0,094 | 0,019 | 0,064 | 0,011 | 0,154 |
| Mangiare | 7,25 ^b ±10,2 | 8,89 ^b ±11,4 | 9,22 ^a ±11,39 | 9,19±12,1 | 7,75±9,86 | 8,20±11,0 | 8,71±12,1 | <0,001 | 0,001 | 0,280 | 0,031 | 0,005 | 0,262 |
| Bere | 6,39±8,49 | 6,01±8,47 | 6,26±8,62 | 5,93±8,76 | 6,51±8,29 | 5,90±8,11 | 6,55±8,76 | 0,665 | 0,190 | 0,031 | 0,921 | 0,531 | 0,420 |
| Stress termico | | | | | | | | | | | | | |
| Ansimare – zampa distesa | 6,67 ^a ±8,81 | 6,25 ^a ±7,76 | 5,32 ^b ±7,07 | 4,93±7,15 | 7,18±8,46 | 5,34±7,36 | 6,82±7,15 | 0,005 | <0,001 | 0,002 | 0,036 | 0,059 | 0,026 |
| Stress - appollaiato/riposo abbeveratoi | 14,6±13,0 | 14,7±11,5 | 14,5±12,1 | 9,56±10,2 | 19,5±12,0 | 13,7±12,0 | 15,6±10,2 | 0,889 | <0,001 | 0,217 | 0,117 | 0,492 | 0,057 |
| Comfort | 8,32 ^b ±9,70 | 8,80 ^b ±9,69 | 9,33 ^a ±10,1 | 10,0±10,7 | 7,67±8,75 | 9,18±9,87 | 8,46±10,7 | 0,002 | <0,001 | 0,009 | 0,056 | 0,562 | 0,361 |
| Sbattere ali | 0,48±2,20 | 0,49±2,49 | 0,53±2,40 | 0,51±2,55 | 0,50±2,17 | 0,56±2,53 | 0,44±2,55 | 0,925 | 0,964 | 0,772 | 0,972 | 0,249 | 0,498 |
| Self-grooming | 6,42 ^b ±8,46 | 7,15 ^{ab} ±8,65 | 7,29 ^a ±8,92 | 8,03±9,57 | 5,92±7,59 | 7,17±8,64 | 6,74±9,57 | 0,006 | <0,001 | 0,025 | 0,254 | 0,740 | 0,164 |
| Stretching | 1,28 ^a ±3,36 | 1,00 ^b ±22,7 | 1,29 ^a ±3,51 | 1,30±3,54 | 1,09±3,01 | 1,26±3,38 | 1,12±3,54 | 0,013 | 0,469 | 0,071 | 0,050 | 0,854 | 0,641 |
| Bagno di sabbia | 0,13±1,18 | 0,15±22,9 | 0,22±1,51 | 0,17±1,33 | 0,17±1,20 | 0,18±1,31 | 0,15±1,33 | 0,652 | 0,326 | 0,088 | 0,086 | 0,247 | 0,867 |
| Interazioni | 0,29±1,56 | 0,28±3,51 | 0,28±1,61 | 0,36±1,82 | 0,21±1,34 | 0,19±1,27 | 0,37±1,82 | 0,779 | 0,004 | 0,042 | 0,876 | 0,703 | 0,474 |
| Allogrooming | 0,29±1,54 | 0,26±8,21 | 0,26±1,57 | 0,34±1,73 | 0,20±1,32 | 0,19±1,26 | 0,35±1,73 | 0,759 | 0,009 | 0,093 | 0,763 | 0,542 | 0,666 |
| Aggressione | 0,007±0,229 | 0,02±0,83 | 0,02±0,37 | 0,02±0,56 | 0,008±0,24 | 0,004±0,173 | 0,03±0,56 | 0,653 | 0,195 | 0,167 | 0,336 | 0,579 | 0,270 |

4.2.4 Effetto dell'ora

I rilievi effettuati in questo studio hanno permesso di valutare anche i diversi comportamenti manifestati nelle diverse fasce orarie. Come è noto, gli uccelli sono prevalentemente animali diurni e la maggior parte delle loro attività vengono svolte durante le ore di luce. Viceversa, nelle ore notturne si dedicano al riposo in posizione coricata.

La *Figura 18a* conferma quanto appena detto, infatti i comportamenti svolti da seduti rappresentano la quasi totalità nella fascia oraria dalle 00:00 alle 05:00 ora in cui riprende il programma di luce. Da notare come nella fascia oraria dalle 10:00 alle 20:00 vi sia un incremento dei comportamenti esercitati in tale posizione che segue l'andamento delle temperature come illustrato nella *Figura 17*. La maggior parte dei comportamenti effettuati da seduti appartiene alla categoria "appollaiato/riposo" (*Figura 18b*) che quindi ne condiziona in maniera significativa l'andamento, sia di notte, che durante le ore di luce in cui si può osservare il caratteristico atteggiamento poco attivo del Ross 308.

Interessante è notare come i comportamenti "razzolare" (*Figura 18c*) e "bagno di sabbia" (*Figura 18d*), se pur rari in quanto eseguiti con frequenza minore o uguale dell'1%, presentano un picco significativo in corrispondenza del picco di temperatura. La giustificazione a questo fenomeno può ritrovarsi nel fatto che l'animale tenda a smuovere il materiale di lettiera alla ricerca di zone più fresche. Inoltre, a supporto di questa tesi, era abbastanza frequente che tali comportamenti, soprattutto il bagno di sabbia, venissero eseguiti in prossimità degli abbeveratoi.

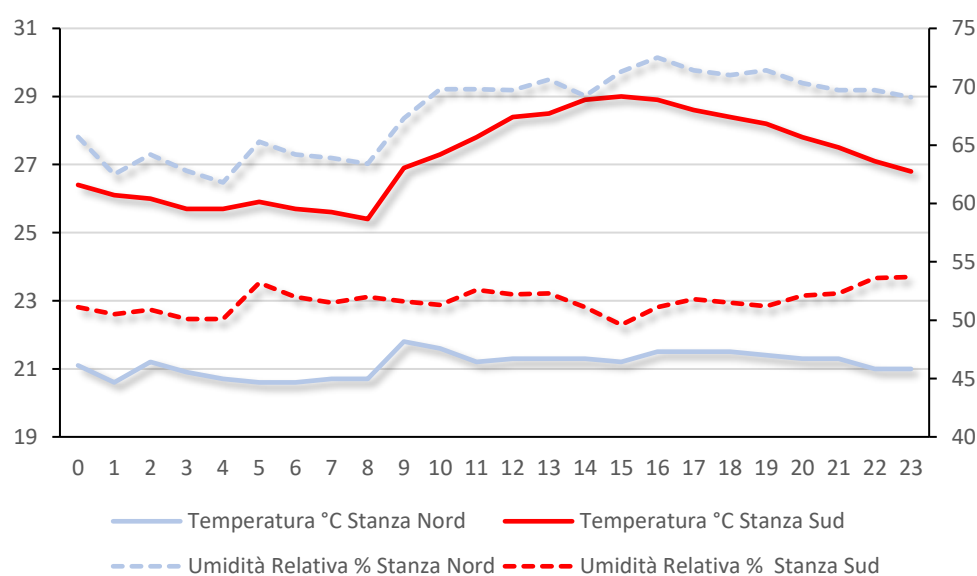


Figura 17. Andamento della temperatura di entrambe le condizioni ambientali (temperatura normale nella stanza Nord e temperatura elevata nella stanza Sud) nell'arco delle 24h di osservazione

In *Figura 18e* è riportata la frequenza oraria degli animali intenti ad alimentarsi alla mangiatoia. Nella presente prova, in accordo con quanto dichiarato da Savory (1980), si è notato che i polli tendono ad alimentarsi alla mangiatoia più frequentemente all'inizio ed alla fine della giornata e meno durante il corso. Infatti, al mattino gli animali risultano essere affamati e quindi fortemente stimolati ad alimentarsi (Savory, 1980). Nel presente studio si è osservato un picco di frequenza alla mangiatoia tra le ore 08:00 e 09:00, in quanto quotidianamente durante questa fascia oraria veniva manualmente smossa e talvolta aggiunta o rinnovata l'alimentazione al suo interno. Invece, l'aumento della frequenza del comportamento "mangiare" a fine giornata dipende dalla capacità dell'animale di prevedere l'inizio del periodo d'oscurità (Savory, 1980) e quindi prepararsi alla fase di riposo notturno.

In *Figura 18f* si può altresì vedere come i comportamenti riconducibili allo "stress da caldo" e congiuntamente dell'"appollaiato/riposo sotto abbeveratoi" vengano manifestati dai polli Ross 308 con un'importante frequenza durante tutta la giornata, soprattutto durante le ore più calde in corrispondenza dei picchi di temperatura, ma anche durante le ore notturne dedicate al riposo. Risulta importante sottolineare che le temperature ambientali registrate nella stanza calda non sono mai scese al disotto dei 25°C durante le 24 ore di osservazione (*Figura 17*) e questo può spiegare l'incidenza di comportamenti riconducibili allo stress da caldo rilevati anche durante le ore meno calde della giornata, in quanto, come ribadito nella sezione dedicata all'introduzione, lo stress termico nei polli a rapido accrescimento si verifica quando la temperatura ambientale supera i 25 °C (Khan et al., 2021).

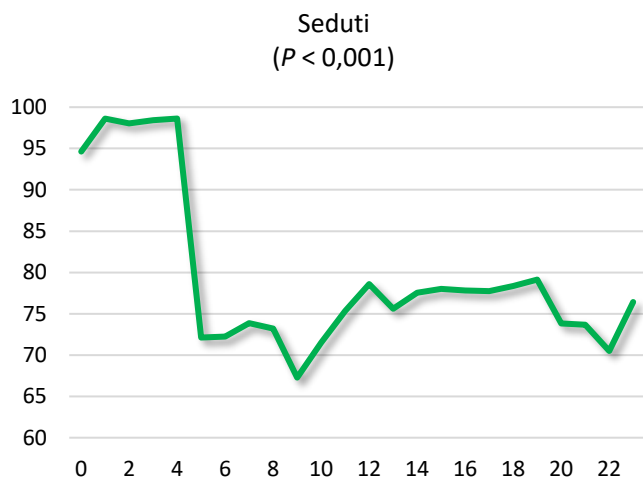


Figura 18a. Animali in posizione seduta per fascia oraria

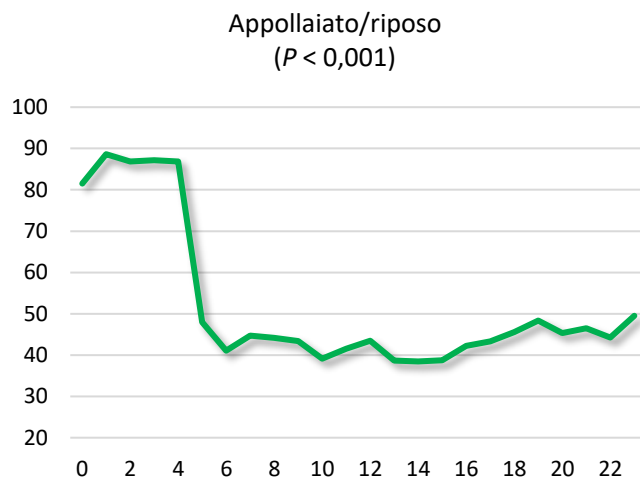


Figura 18b. Animali in posizione appollaiata/riposo per fascia oraria

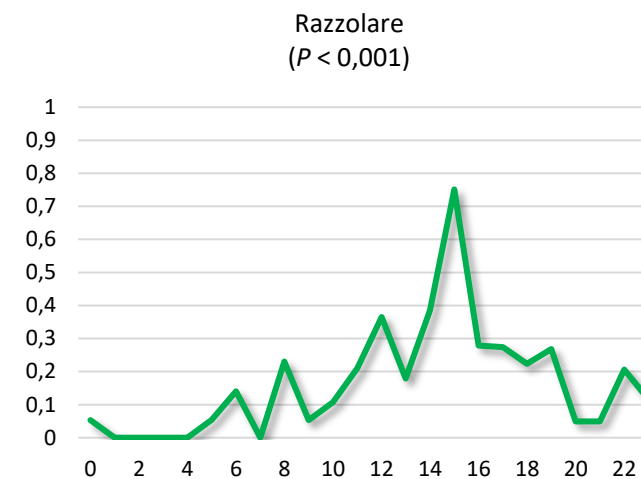


Figura 18c. Animali che effettuano il comportamento razzolare per fascia oraria

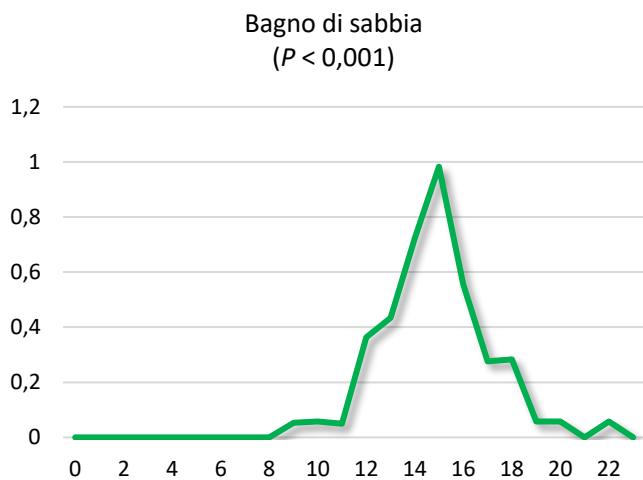


Figura 18d. Animali che effettuano il bagno di sabbia per fascia oraria

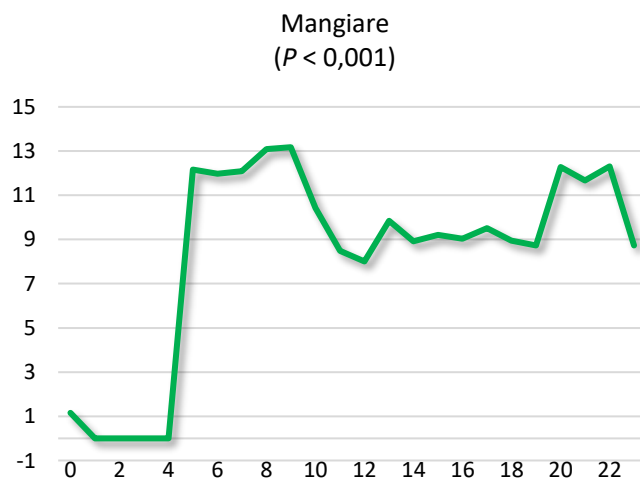


Figura 18e. Animali intenti ad alimentarsi alle mangiatoie per fascia oraria

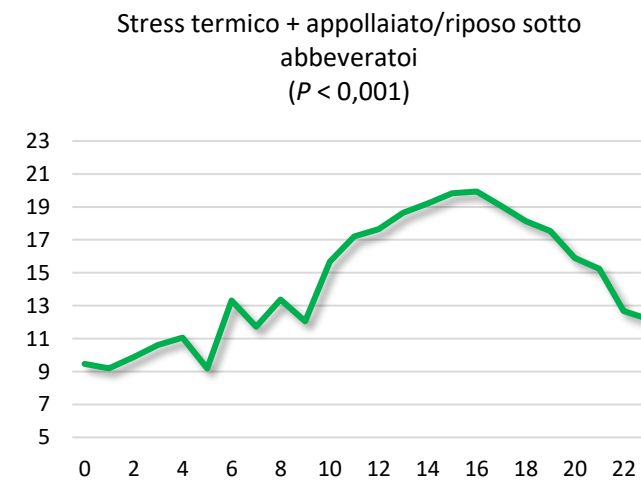


Figura 18f. Animali che manifestano stress da caldo ed in posizione appollaiata agli abbeveratoi per fascia oraria

4.2.5 Interazione “Temperatura × Ora”

Diversi studi sono concordi nell’affermare che condizioni di elevata temperatura ambientale tendano ad inibire il livello di attività dei polli, aumentando invece l’incidenza di comportamenti statici (Lara & Rostagno, 2013). Il presente studio, se pur in maniera contenuta, risulta in accordo con questa affermazione, in quanto, come illustrato in *Figura 19a* l’andamento della categoria “statico”, che comprende i comportamenti appollaiato/riposo, fermo in piedi ed appollaiato/riposo in zona abbeveratoio, per gli animali nella stanza a temperatura elevata e normale, denota inizialmente un andamento comune tra le due variabili, per poi differenziarsi a metà giornata con un lieve aumento della staticità per gli animali sottoposti a stress da caldo rispetto a quelli a temperatura normale.

Come accennato precedentemente una strategia osservata in questo studio ed utilizzata dai polli per dissipare più efficacemente il calore risulta essere il coricarsi in zona dell’abbeveratoio, perché in prossimità di questo, è più probabile che perdite dall’impianto durante il comportamento di abbeverata o dovute all’impianto stesso provochino la caduta di gocce d’acqua, con conseguente rinfrescamento ed inumidimento della lettiera sottostante. Nella *Figura 19b* si può osservare come questo comportamento sia particolarmente più manifestato negli animali stabulati all’interno della stanza ad elevata temperatura. Un particolare che ha destato stupore è stato notare come col proseguire del periodo di buio aumentasse progressivamente il numero di animali coricati in suddetta zona, avvalorando l’ipotesi espressa precedentemente che gli animali subissero lo stress da caldo anche durante le ore notturne. La maggiore presenza di polli nell’area degli abbeveratoi durante la notte rispetto al giorno nella stanza a Sud è dovuta principalmente al fatto che durante le ore di buio l’animale non svolge praticamente nessuna attività se non quella di dormire coricato, a differenza del giorno in cui risulta più dinamico ed intento a manifestare diversi comportamenti tipici dell’etogramma della specie. Inoltre, è plausibile che si instaurino fenomeni di competizione per cui gli animali che all’interno della gerarchia risultano dominanti, occupino e presidino la zona degli abbeveratoi precludendone l’accesso agli individui più deboli, incrementandone quindi lo stato di malessere e di stress.

Nella *Figura 19c* si può notare come l’andamento delle manifestazioni riconducibili al “comfort” combaci tra gli animali nella stanza ad elevata temperatura e quelli nella stanza a temperatura normale dalle prime ore della giornata fino a metà mattina. Successivamente, dalle 11:00 in poi, si ha una divergenza che vede un aumento della frequenza nella stanza Nord con valori massimi nelle ore centrali della giornata e, viceversa, un costante peggioramento nella stanza Sud. Un andamento

analogo è stato osservato anche per la categoria “beccare il pavimento”, in cui, come si può denotare in *Figura 19d*, nella stanza calda, all’aumentare delle temperature e col proseguire della giornata, la frequenza nella manifestazione di tale comportamento sia costantemente al di sotto rispetto alla stanza a temperatura normale, dove invece cresce progressivamente fino a registrare il picco in corrispondenza delle ore 14:00. Questo perché, in condizioni di stress, la priorità di ogni organismo vivente risulta essere la sopravvivenza (Nawaz et al., 2021) ed il pollo investe quindi più energie per mettere in atto meccanismi di espulsione del calore (Souza et al., 2016), limitando movimenti ed espressioni tipiche del proprio repertorio comportamentale.

In accordo con le considerazioni precedentemente esposte, risulta interessante vedere come lo stress termico (*Figura 19e*) nella stanza calda aumenti considerevolmente dopo le ore 08:00, contestualmente all’incremento delle temperature (*Figura 17*), raggiungendo valori elevati nelle fasce orarie ventrali della giornata, per poi attenuarsi progressivamente con l’avvenire della sera.

Particolarmente significativo risulta confrontare i dati ricavati dalle due stanze a differenti temperature per quanto riguarda i comportamenti riconducibili allo “stress da caldo” e dell’“appollaiato/riposo sotto abbeveratoi” considerati contestualmente. Come rappresentato in *Figura 19f* si può oggettivamente affermare che vi sia un distacco netto tra gli animali stabulati nelle due differenti condizioni, evidenziando come gli animali nella stanza a sud patiscano evidentemente di più lo stress da caldo, in particolare modo nelle ore più calde del giorno dove si raggiungono valori oltre il 25%, rispetto a quelli nella stanza a nord dove i valori massimi si aggirano intorno al 15%.

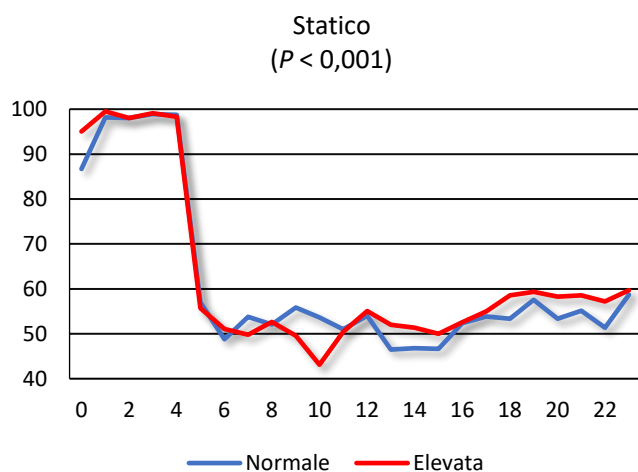


Figura 19a. Animali in posizione statica in relazione alla temperatura ed alla fascia oraria

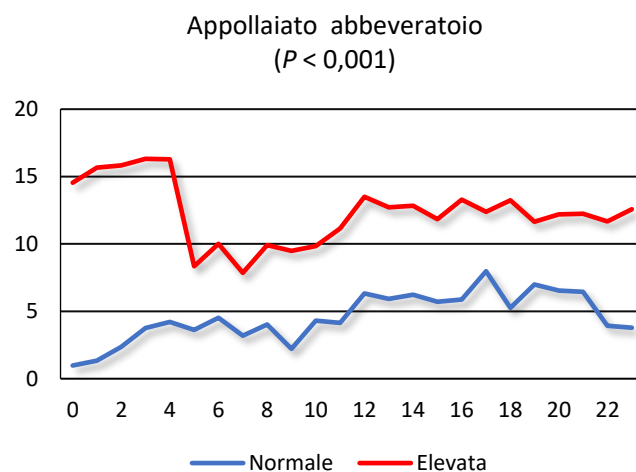


Figura 19b. Animali in posizione appollaiata in relazione alla temperatura ed alla fascia oraria

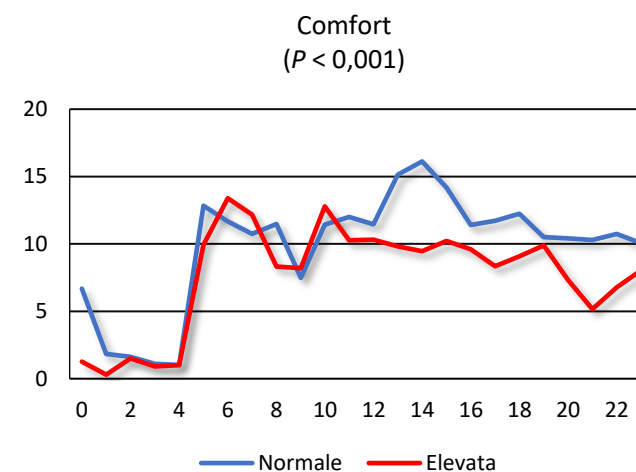


Figura 19c. Animali che esprimono i comportamenti tipico del comfort in relazione alla temperatura ed alla fascia oraria

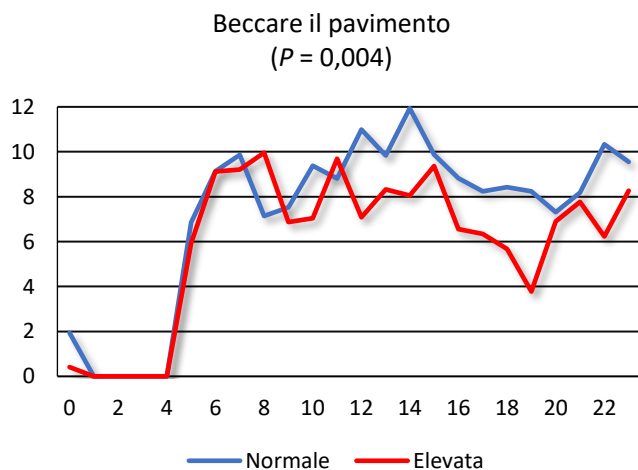


Figura 19d. Animali intenti a beccare il pavimento in relazione alla temperatura ed alla fascia oraria

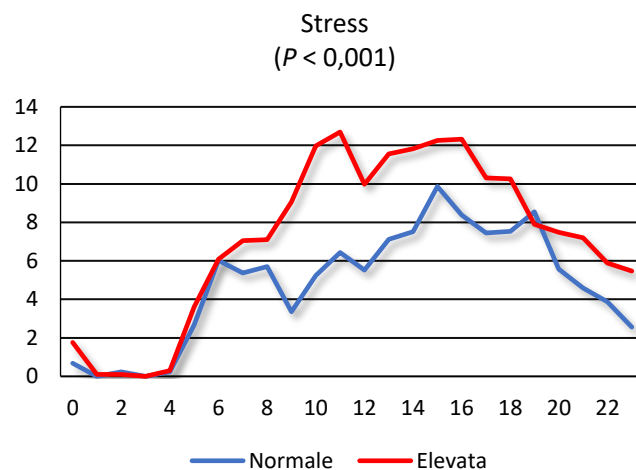


Figura 19e. Animali che manifestano lo stress da caldo in relazione alla temperatura ed alla fascia oraria

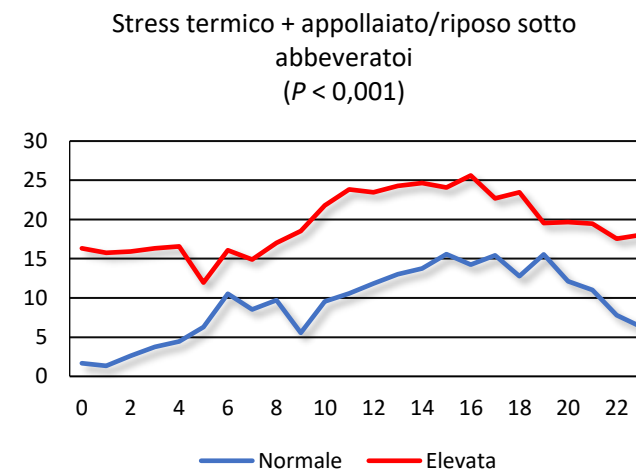


Figura 19f. Animali che manifestano stress da caldo ed in posizione appollaiata agli abbeveratoi per fascia oraria

4.2.6 Interazione “Dieta x Temperatura”

Per quanto concerne l'effetto dell'interazione tra le variabili “dieta” e “temperatura” si è osservato una riduzione significativa della frequenza delle percentuali di animali statici per gli animali alimentati con diete integrate con microalga (C1 e C2) e stabulati all'interno della stanza a temperatura normale (*Figura 20a*). Viceversa, non si è registrato nessun effetto della dieta per gli animali nella stanza calda. Il comportamento “attivo” (*Figura 20b*), invece, segue un andamento inverso, illustrando ad elevate temperature una minor frequenza per i polli alimentati con le microalghe, in particolare con la dieta C1, mentre a temperature normali non si rilevano differenze significative tra le diete.

Analizzando la categoria “mangiare” (*Figura 20c*), si può dedurre come il livello alimentare C0, rimanga pressoché costante indipendentemente dalla temperatura della stanza. Al contrario, entrambe le diete con integrazione di *Chlorella vulgaris*, hanno mostrato un aumento della frequenza in mangiatoia dei polli nella stanza a temperatura normale. Per quanto riguarda quelli allevati in condizioni termiche da stress da caldo, non si nota differenza significativa tra la dieta C0 e la C1, mentre viene mantenuta quella tra le diete C0 e C2.

Come descritto precedentemente, l'obiettivo di questa tesi era di valutare l'effetto dell'integrazione della dieta con microalga *Chlorella vulgaris* su polli da carne ibridi commerciali Ross analizzando le risposte comportamentali degli animali in condizioni di termoneutralità e stress da caldo. Come si può denotare in *Figura 20d*, l'espressione dei comportamenti riconducibili allo stress da caldo risulta significativamente condizionata ($P = 0,036$) dall'interazione delle due variabili. Infatti, a temperatura normale gli animali che manifestano stress sono circa il 5% degli animali osservati in tutti i gruppi, indipendentemente dalla dieta. A temperatura elevata l'inclusione di microalga, soprattutto in elevata quantità, ne riduce significativamente la percentuale rispetto alla dieta di controllo. Come accennato nell'introduzione, gli eventi biochimici e fisiologici correlati con l'ipertermia possono potenzialmente stimolare la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Lara & Rostagno, 2013), che causano lesioni cellulari, l'aumento della perossidazione lipidica e dei lipidi sierici (Vijayavel et al., 2007). La *Chlorella vulgaris* contiene molte sostanze bioattive come luteina, α -carotene, β -carotene, acido ascorbico ed α -tocoferolo che possiedono proprietà medicinali antiossidanti (Vijayavel et al., 2007). Come dimostrato anche nei topi sottoposti all'effetto di metalli pesanti e altri composti nocivi (piombo, cadmio e naftalene) (Safi et al., 2014), le sostanze bioreattive contenute all'interno della microalga, sono in grado di eliminare i radicali liberi, esercitando un effetto protettivo riducendo significativamente lo stress ossidativo. Inoltre,

aumentano l'attività antiossidante esercitata da meccanismi di difesa endogeni eseguita da enzimi come superossido dismutasi, glutazione perossidasi, glutazione riduttasi e catalasi (Vijayavel et al., 2007). A supporto di questi dati è stato notato che i polli da carne alimentati con *Chlorella* hanno subito un aumento dell'attività sierica della superossido dismutasi e la diminuzione della concentrazione di malondialdeide sierica (prodotto finale della perossidazione lipidica) (Mirzaie et al., 2020). Inoltre, come detto precedentemente la microalga somministrata oralmente nei topi, diminuisce significativamente l'impatto dei fattori di stress riducendo l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (Souza Queiroz et al., 2016).

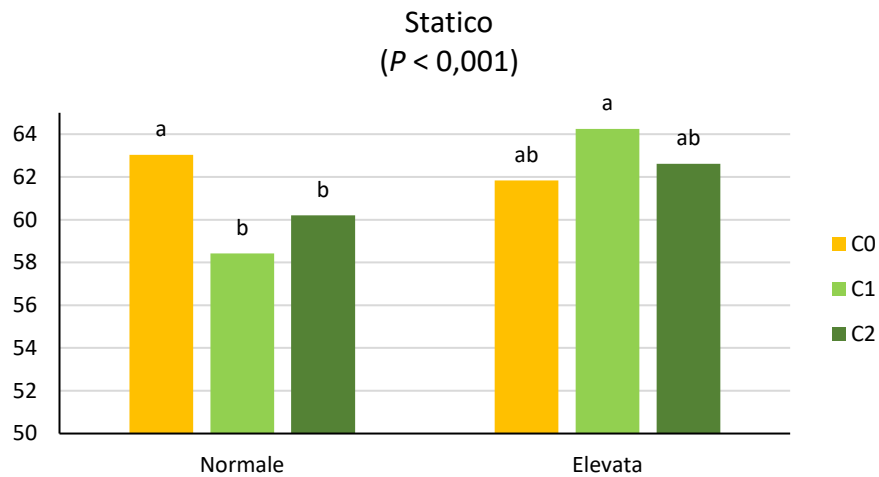


Figura 20a. Animali in posizione statica in relazione alla dieta ed alla temperatura

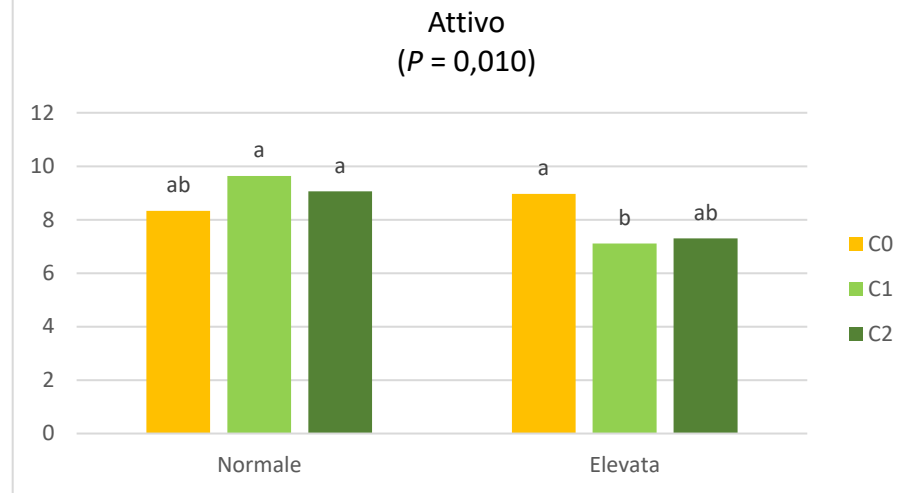


Figura 20b. Animali che svolgono un comportamento attivo in relazione alla dieta ed alla temperatura

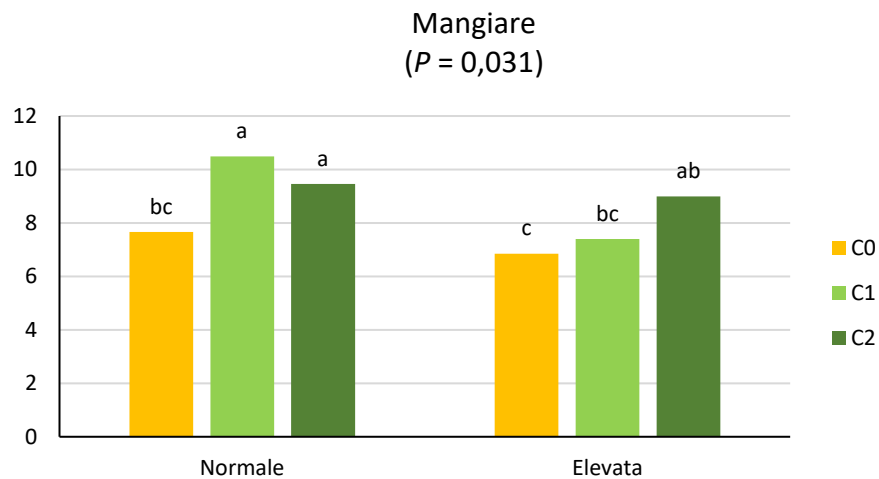


Figura 20b. Animali intenti ad alimentarsi alle mangiatoie in relazione alla dieta ed alla temperatura

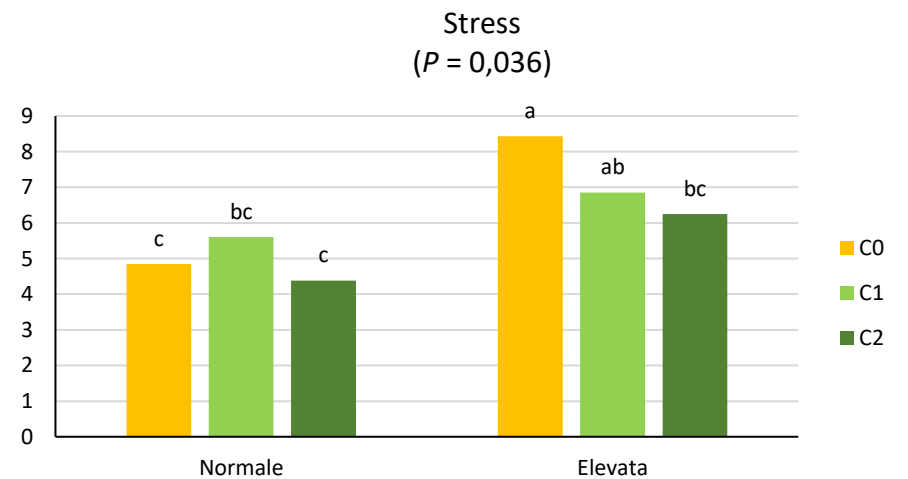


Figura 20b. Animali che manifestano lo stress da caldo in relazione alla dieta ed alla temperatura

4.2.7 Interazione “Temperatura x Sesso”

Infine, come illustrato nella *Figura 21*, dall’analisi dei dati rilevati, si è visto che quando sottoposti ad elevate temperature, i polli maschi sono più suscettibili rispetto alle femmine allo stress da caldo, mostrando in maniera più frequente e significativa atteggiamenti quali *panting*, sollevare le ali e zampa distesa al suolo. Questo è probabilmente dovuto al fatto che gli individui maschi, presentando una mole maggiore, producono più calore metabolico e scambiano meno efficacemente calore con l’ambiente circostante, avendo un rapporto peso/superficie esposta più basso.

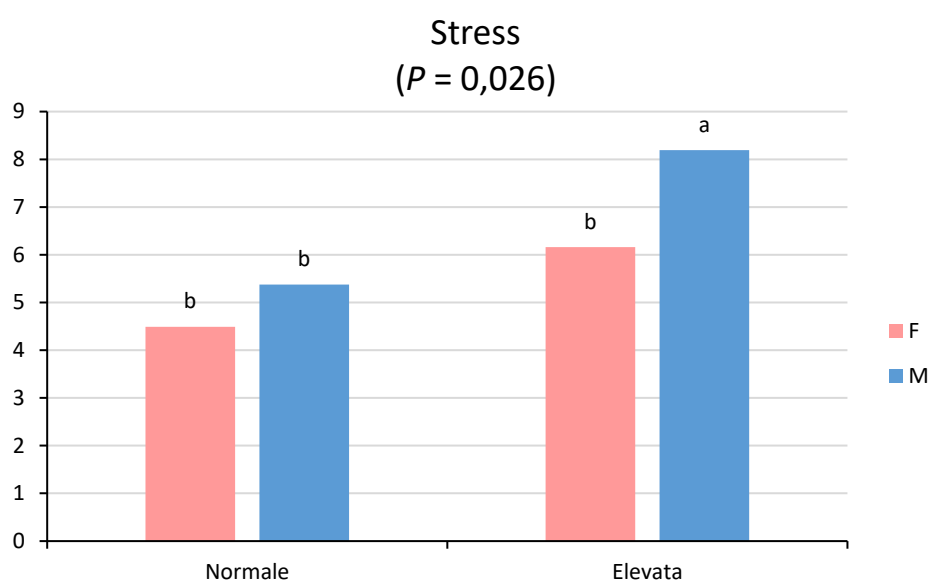


Figura 21. Effetto dell’interazione della temperatura e del sesso sull’espressione dei comportamenti riconducibili allo stress termico

5. CONCLUSIONI

Il comparto avicolo di tutto il mondo si trova ad affrontare numerose sfide in quanto deve contestualmente sopperire all'aumento della domanda di prodotti di origine animale, mitigare gli effetti dovuti al surriscaldamento globale e l'impatto negativo che le elevate temperature esercitano sul benessere degli animali. Per fronteggiare la continua richiesta di materie prime proteiche necessarie per sostenere la produzione avicola, l'industria mangimistica è fortemente stimolata a trovare soluzioni alternative più sostenibili come l'impiego di microalghe. Queste possono essere valide risorse in grado di esercitare un minor impatto ambientale e di migliorare il benessere degli animali, aspetti a cui il consumatore del prodotto finale pone sempre più attenzione.

La presente tesi ha inteso analizzare le risposte comportamentali degli animali in condizioni di termoneutralità e stress da caldo al fine di valutare l'effetto dell'integrazione della dieta con microalga *Chlorella vulgaris* su polli da carne ibridi commerciali Ross 308. Dai risultati emersi si evince che la microalga è stata in grado di ridurre significativamente i comportamenti caratteristici riconducibili allo stress da caldo come *panting*, ali sollevate e zampa distesa al suolo. L'effetto misurato a livello di risposta comportamentale è consolidato anche dal dato relativo alle temperature rettali che mostrano una significativa riduzione della temperatura corporea degli animali alimentati con *Chlorella vulgaris*. Inoltre, la dieta C2 con integrazione al 6% è stata in grado di migliorare il comfort degli animali. Complessivamente, si può affermare che la microalga *Chlorella vulgaris* può rappresentare un integratore e fonte alimentare interessante per mitigare gli effetti dello stress da caldo nel pollo da carne.

Tuttavia, ulteriori approfondimenti che integrino l'analisi comportamentale con indicatori fisiologici di stress (es. livelli di corticosterone in feci e piume) sono auspicabili per rafforzare le informazioni raccolte nella presente tesi ed avvalorarne i risultati ottenuti.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abare, M. Y., Rahayu, S., & Tugiyanti, E. (2023). Review: The role of heat shock proteins in chicken: Insights into stress adaptation and health. *Research in Veterinary Science*, 165. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.105057>
- Adarme-Vega, T. C., Lim, D. K. Y., Timmins, M., Vernen, F., Li, Y., & Schenk, P. M. (2012). Microalgal biofactories: A promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production. *Microbial Cell Factories*, 11(1), 96. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-96>
- Altmann, B. A., Neumann, C., Rothstein, S., Liebert, F., & Mörlein, D. (2019). Do dietary soy alternatives lead to pork quality improvements or drawbacks? A look into micro-alga and insect protein in swine diets. *Meat Science*, 153, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.03.001>
- Andriola, Y. T., Moreira, F., Anastácio, E., Camelo Jr, F. A., Silva, A. C., Varela Jr, A. S., Gheller, S. M. M., Goularte, K. L., Corcini, C. D., & Lucia Jr, T. (2018). Boar sperm quality after supplementation of diets with omega-3 polyunsaturated fatty acids extracted from microalgae. *Andrologia*, 50(1), e12825. <https://doi.org/10.1111/and.12825>
- Attia, Y. A., Al-Harhi, M. A., El-Shafey, A. S., Rehab, Y. A., & Kim, W. K. (2017). Enhancing Tolerance of Broiler Chickens to Heat Stress by Supplementation with Vitamin E, Vitamin C and/or Probiotics. *Annals of Animal Science*, 17(4), 1155–1169. <https://doi.org/10.1515/aoas-2017-0012>
- Aviagen 2018: Ross Broiler, Management Handbook*. (s.d.). Recuperato 4 gennaio 2024, da https://aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-BroilerHandbook2018-EN.pdf
- Barbosa, M. J., Zijffers, J. W., Nisworo, A., Vaes, W., van Schoonhoven, J., & Wijffels, R. H. (2005). Optimization of biomass, vitamins, and carotenoid yield on light energy in a flat-panel reactor using the A-stat technique. *Biotechnology and Bioengineering*, 89(2), 233–242. <https://doi.org/10.1002/bit.20346>
- Bashar, A. M., Abdelnour, S. A., El-Darawany, A. A., & Sheiha, A. M. (2023). Dietary Supplementation of Microalgae and/or Nanominerals Mitigate the Negative Effects of Heat Stress in Growing Rabbits. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-023-03953-0>
- Begum, H., Yusoff, F. MD., Banerjee, S., Khatoon, H., & Shariff, M. (2016). Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2209–2222. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.764841>
- Bizeray, D., Estevez, I., Leterrier, C., & Faure, J. M. (2002). Effects of increasing environmental complexity on the physical activity of broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, 79(1), 27–41. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00083-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00083-7)
- Bonos, E., Kasapidou, E., Kargopoulos, A., Karampampas, A., Christaki, E., Florou-Paneri, P., & Nikolakakis, I. (2016). Spirulina as a functional ingredient in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science*, 46(1), Articolo 1. <https://doi.org/10.4314/sajas.v46i1.12>
- Boskovic Cabrol, M., Martins, J. C., Malhão, L. P., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Almeida, A. M., Raymundo, A., & Lordelo, M. (2022). Partial replacement of soybean meal with *Chlorella vulgaris* in broiler diets influences performance and improves breast meat quality and fatty acid composition. *Poultry Science*, 101(8), 101955. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101955>
-

- Branco, T., Moura, D. J., Nääs, I. A., & Oliveira, S. R. M. (2020). Detection of broiler heat stress by using the generalised sequential pattern algorithm. *Biosystems Engineering*, *199*, 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2019.10.012>
- Cangar, O., Aerts, J.-M., Buyse, J., & Berckmans, D. (2008). Quantification of the spatial distribution of surface temperatures of broilers. *Poultry Science*, *87*(12), 2493–2499. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00326>
- Cartoni Mancinelli, A., Baldi, G., Soglia, F., Mattioli, S., Sirri, F., Petracci, M., Castellini, C., & Zampiga, M. (2023). Impact of chronic heat stress on behavior, oxidative status and meat quality traits of fast-growing broiler chickens. *Frontiers in Physiology*, *14*, 1242094. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1242094>
- Chaudhary, A., Mishra, P., Amaz, S. A., Mahato, P. L., Das, R., Jha, R., & Mishra, B. (2023). Dietary supplementation of microalgae mitigates the negative effects of heat stress in broilers. *Poultry Science*, *102*(10), 102958. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102958>
- Chiumenti, R., Chiumenti, P., & Chiumenti, A. (2016). *Genio rurale: Topografia e costruzioni*. Edagricole Scolastico.
- Chowdhury, V. S., Han, G., Bahry, M. A., Tran, P. V., Do, P. H., Yang, H., & Furuse, M. (2017). L-Citrulline acts as potential hypothermic agent to afford thermotolerance in chicks. *Journal of Thermal Biology*, *69*, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.07.007>
- Christaki, E., Bonos, E., & Florou-Paneri, P. (2015). Chapter 14—Innovative Microalgae Pigments as Functional Ingredients in Nutrition. In S.-K. Kim (A c. Di), *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 233–243). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00014-5>
- Coderoni, S., & Pontrandolfi, A. (2016). *ZOOTECNIA ITALIANA E MITIGAZIONE DEI CAMBIAMENTI CLIMATICI. Analisi delle potenzialità e delle prospettive*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35955.27686>
- Coelho, D., Lopes, P. A., Cardoso, V., Ponte, P., Brás, J., Madeira, M. S., Alfaia, C. M., Bandarra, N. M., Gerken, H. G., Fontes, C. M. G. A., & Prates, J. A. M. (2019). Novel combination of feed enzymes to improve the degradation of *Chlorella vulgaris* recalcitrant cell wall. *Scientific Reports*, *9*(1), Articolo 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41775-0>
- Dawson, L. C., Widowski, T. M., Liu, Z., Edwards, A. M., & Torrey, S. (2021). In pursuit of a better broiler: A comparison of the inactivity, behavior, and enrichment use of fast- and slower growing broiler chickens. *Poultry Science*, *100*(12), 101451. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101451>
- de Vries, M., & de Boer, I. J. M. (2010). Comparing environmental impacts for livestock products: A review of life cycle assessments. *Livestock Science*, *128*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.11.007>
- EFSA, ECDC, EURL for Avian Influenza, Adlhoch, C., Fusaro, A., Gonzales, J. L., Kuiken, T., Marangon, S., Niqueux, É., Staubach, C., Terregino, C., Guajardo, I. M., Chuzhakina, K., & Baldinelli, F. (2022). Avian influenza overview June – September 2022. *EFSA Journal*, *20*(10), e07597. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7597>
- EFSA, ECDC, EURL for Avian Influenza, Adlhoch, C., Fusaro, A., Gonzales, J. L., Kuiken, T., Mirinavičiūtė, G., Niqueux, É., Staubach, C., Terregino, C., Baldinelli, F., Rusinà, A., & Kohnle, L. (2023). Avian influenza overview June–September 2023. *EFSA Journal*, *21*(10), e08328. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8328>

- EFSA Panel on AHAW, EURL for Avian Influenza, Nielsen, S. S., Alvarez, J., Bicout, D. J., Calistri, P., Canali, E., Drewe, J. A., Garin-Bastuji, B., Gonzales Rojas, J. L., Gortázar, C., Herskin, M., Michel, V., Miranda Chueca, M. Á., Padalino, B., Roberts, H. C., Spoolder, H., Stahl, K., Velarde, A., ... Viltrop, A. (2023). Vaccination of poultry against highly pathogenic avian influenza – part 1. Available vaccines and vaccination strategies. *EFSA Journal*, *21*(10), e08271. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8271>
- El-Shinnawy, A. M. (2015). Effect of betaine supplementation to methionine adequate diet on growth performance, carcass characteristics, some blood parameters and economic efficiency of broilers. *Journal of Animal and Poultry Production*, *6*(1), 27–41.
- Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of Applied Poultry Research*, *24*(2), 206–214. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv027>
- FAO (A c. Di). (2017). *The future of food and agriculture: Trends and challenges*. Food and Agriculture Organization.
- Fedde, M. R. (1998). Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. *Poultry Science*, *77*(8), 1130–1138. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1130>
- Fisinin, V. I., & Kavtarashvili, A. Sh. (2015). Heat stress in poultry. II. methods and techniques for prevention and alleviation. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, *50*(4), 431–443. Scopus. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.4.431eng>
- Flachowsky, G., Meyer, U., & Südekum, K.-H. (2017). Land Use for Edible Protein of Animal Origin—A Review. *Animals*, *7*(3), Artículo 3. <https://doi.org/10.3390/ani7030025>
- Fornasiero, D., Fusaro, A., Zecchin, B., Mazzucato, M., Scolamacchia, F., Manca, G., Terregino, C., Dorotea, T., & Mulatti, P. (2023). Integration of Epidemiological and Genomic Data to Investigate H5N1 HPAI Outbreaks in Northern Italy in 2021–2022. *Pathogens*, *12*(1), Artículo 1. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010100>
- Fouda, S. F., & Ismail, R. F. S. A. (2017). EFFECT OF SPIRULINA PLATENSIS ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF RABBIT BUCKS. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, *20*(1), 55–66. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2017.75118>
- Freitas, H. R. (2017). Chlorella vulgaris as a source of essential fatty acids and micronutrients: A brief commentary. *The Open Plant Science Journal*, *10*(1).
- Furbeyre, H., van Milgen, J., Mener, T., Gloaguen, M., & Labussière, E. (2018). Effects of oral supplementation with Spirulina and Chlorella on growth and digestive health in piglets around weaning. *Animal*, *12*(11), 2264–2273.
- Ghazalah, A. A., Abd-Elsamee, M. O., & Ali, A. M. (2008). Influence of dietary energy and poultry fat on the response of broiler chicks to heat therm. *Int. J. Poult. Sci*, *7*(4), 355–359.
- Gutiérrez-Salmeán, G., Fabila-Castillo, L., & Chamorro-Cevallos, G. (2015). Nutritional and toxicological aspects of Spirulina (Arthrospira). *Nutricion Hospitalaria*, *32*(1), 34–40. Scopus. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.9001>
- Habashy, W. S., Milfort, M. C., Adomako, K., Attia, Y. A., Rekaya, R., & Aggrey, S. E. (2017). Effect of heat stress on amino acid digestibility and transporters in meat-type chickens. *Poultry Science*, *96*(7), 2312–2319. <https://doi.org/10.3382/ps/pex027>

- Hassanein, H., Arafa, M. M., Abo Warda, M. A., & Abd-Elall, A. (2014). EFFECT OF USING SPIRULINA PLATENSIS AND CHLORELLA VULGARIS AS FEED ADDITIVES ON GROWING RABBIT PERFORMANCE. *Egyptian Journal of Rabbit Science*, 24(2), 413–431. <https://doi.org/10.21608/ejrs.2014.47489>
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravikumar, R., & Carvalho, I. (2013). Microalgae taxonomy and breeding. *Biofuel Crops: Production, Physiology and Genetics*, 44–53.
- Hernández-Carmona, G., Carrillo-Domínguez, S., Arvizu-Higuera, D. L., Rodríguez-Montesinos, Y. E., Murillo-Álvarez, J. I., Muñoz-Ochoa, M., & Castillo-Domínguez, R. M. (2009). Monthly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J.E. Areschoug. *Journal of Applied Phycology*, 21(5), 607–616. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9454-5>
- Ismea. (2023, aprile 26). *Carni—Avicoli e uova—News e analisi—Tendenze Avicoli—N.1/2023—Roma, 26 Aprile 2023.* www.ismeamercati.it. <https://www.ismeamercati.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/12591>
- Jez, C., Beaumont, C., & Magdelaine, P. (2011). Poultry production in 2025: Learning from future scenarios. *World's Poultry Science Journal*, 67(1), 105–114. <https://doi.org/10.1017/S0043933911000092>
- Kang, H. K., Salim, H. M., Akter, N., Kim, D. W., Kim, J. H., Bang, H. T., Kim, M. J., Na, J. C., Hwangbo, J., Choi, H. C., & Suh, O. S. (2013). Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 22(1), 100–108. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00622>
- Khan, R., Naz, S., Ullah, H., Ullah, Q., Laudadio, V., Ullah, Q., Bozzo, G., & Tufarelli, V. (2021). Physiological dynamics in broiler chickens under heat stress and possible mitigation strategies. *Animal biotechnology*, 34. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1972005>
- Kibria, S., & Kim, I. H. (2019). Impacts of dietary microalgae (*Schizochytrium* JB5) on growth performance, blood profiles, apparent total tract digestibility, and ileal nutrient digestibility in weaning pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(13), 6084–6088. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9886>
- Korver, D. R. (2023). Review: Current challenges in poultry nutrition, health, and welfare. *animal*, 17, 100755. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100755>
- Kovač, D. J., Simeunović, J. B., Babić, O. B., Mišan, A. Č., & Milovanović, I. L. (2013). Algae in food and feed. *Food and Feed Research*, 40(1), 21-32-21–32.
- Krishnan, G., Devaraj, C., Silpa, M. V., & Sejian, V. (2023). Thermoregulation in Birds. In P. K. Das, V. Sejian, J. Mukherjee, & D. Banerjee (A c. Di), *Textbook of Veterinary Physiology* (pp. 751–764). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9410-4_29
- Kusmayadi, A., Leong, Y. K., Yen, H.-W., Huang, C.-Y., & Chang, J.-S. (2021). Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans – Biotechnological and environmental aspects. *Chemosphere*, 271, 129800. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129800>
- Lamb, W. F., Wiedmann, T., Pongratz, J., Andrew, R., Crippa, M., Olivier, J. G. J., Wiedenhofer, D., Mattioli, G., Khourdajie, A. A., House, J., Pachauri, S., Figueroa, M., Saheb, Y., Slade, R., Hubacek, K., Sun, L., Ribeiro, S. K., Khennas, S., Can, S. de la R. du, ... Minx, J. (2021). A review of trends and drivers of greenhouse gas emissions by sector from 1990 to 2018. *Environmental Research Letters*, 16(7), 073005. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abee4e>

- Lara, L. J., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of Heat Stress on Poultry Production. *Animals*, 3(2), Articolo 2. <https://doi.org/10.3390/ani3020356>
- Lin, H., Jiao, H. C., Buyse, J., & Decuyper, E. (2006). Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62(1), 71–86. <https://doi.org/10.1079/WPS200585>
- Liu, L., Ren, M., Ren, K., Jin, Yuanchang, & Yan, M. (2020). Heat stress impacts on broiler performance: A systematic review and meta-analysis. *Poultry Science*, 99(11), 6205–6211. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.019>
- Ma, B., Zhang, L., Li, J., Xing, T., Jiang, Y., & Gao, F. (2021). Dietary taurine supplementation ameliorates muscle loss in chronic heat stressed broilers via suppressing the perk signaling and reversing endoplasmic reticulum-stress-induced apoptosis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(5), 2125–2134. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10835>
- Madeira, M. S., Cardoso, C., Lopes, P. A., Coelho, D., Afonso, C., Bandarra, N. M., & Prates, J. A. M. (2017). Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. *Livestock Science*, 205, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>
- Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pirani, A., Connors, S. L., Péan, C., Berger, S., Caud, N., Chen, Y., Goldfarb, L., & Gomis, M. I. (2021). Climate change 2021: The physical science basis. *Contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*, 2.
- Meadus, W. J., Duff, P., Uttaro, B., Aalhus, J. L., Rolland, D. C., Gibson, L. L., & Dugan, M. E. R. (2010). Production of Docosahexaenoic Acid (DHA) Enriched Bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 465–472. <https://doi.org/10.1021/jf9028078>
- Ministero della Salute. (2023, ottobre 31). *BDN dell'Anagrafe Zootechnica*. https://www.vetinfo.it/j6_statistiche/index.html#/report-pbi/41
- Mirzaie, S., Sharifi, S. D., & Zirak-Khattab, F. (2020). The effect of a Chlorella by-product dietary supplement on immune response, antioxidant status, and intestinal mucosal morphology of broiler chickens. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1771–1777. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02093-5>
- Mirzaie, S., Zirak-Khattab, F., Hosseini, S. A., & Donyaei-Darian, H. (2018). Effects of dietary Spirulina on antioxidant status, lipid profile, immune response and performance characteristics of broiler chickens reared under high ambient temperature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(4), 556. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0483>
- Moradi kor, N., Akbari, M., & Olfati, A. (2016). The effects of different levels of Chlorella microalgae on blood biochemical parameters and trace mineral concentrations of laying hens reared under heat stress condition. *International Journal of Biometeorology*, 60(5), 757–762. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1071-1>
- Moran, C. A., Currie, D., Keegan, J. D., & Knox, A. (2018). Tolerance of Broilers to Dietary Supplementation with High Levels of the DHA-Rich Microalga, *Aurantiochytrium Limacinum*: Effects on Health and Productivity. *Animals*, 8(10), Articolo 10. <https://doi.org/10.3390/ani8100180>
- Mottet, A., & Tempio, G. (2017). Global poultry production: Current state and future outlook and challenges. *World's Poultry Science Journal*, 73(2), 245–256. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000071>

- Moustafa, E. S., Alsanie, W. F., Gaber, A., Kamel, N. N., Alaqil, A. A., & Abbas, A. O. (2021). Blue-Green Algae (*Spirulina platensis*) Alleviates the Negative Impact of Heat Stress on Broiler Production Performance and Redox Status. *Animals*, 11(5), Articolo 5. <https://doi.org/10.3390/ani11051243>
- Nawaz, A. H., Amoah, K., Leng, Q. Y., Zheng, J. H., Zhang, W. L., & Zhang, L. (2021). Poultry Response to Heat Stress: Its Physiological, Metabolic, and Genetic Implications on Meat Production and Quality Including Strategies to Improve Broiler Production in a Warming World. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.699081>
- Nielsen, B. L., Thodberg, K., Malmkvist, J., & Steenfeldt, S. (2011). Proportion of insoluble fibre in the diet affects behaviour and hunger in broiler breeders growing at similar rates. *Animal*, 5(8), 1247–1258. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000218>
- Nkukwana, T. T. (2018). Global poultry production: Current impact and future outlook on the South African poultry industry. *South African Journal of Animal Science*, 48(5), Articolo 5. <https://doi.org/10.4314/sajas.v48i5.7>
- OECD-FAO. (2020). *OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029*. Organisation for Economic Co-operation and Development. https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2020-2029_1112c23b-en
- Park, J. H., Lee, S. I., & Kim, I. H. (2018). Effect of dietary *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* on the growth performance, antioxidant enzyme activity, nutrient digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 97(7), 2451–2459. <https://doi.org/10.3382/ps/pey093>
- Pawar, S. S., Sajjanar, B., Lonkar, V. D., Kurade, N. P., Kadam, A. S., Nirmal, A. V., Brahmane, M. P., & Bal, S. K. (2016). Assessing and mitigating the impact of heat stress in poultry. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 4(6), 332–341.
- Peiretti, P. G., & Meineri, G. (2011). Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of growing rabbits. *Livestock Science*, 140(1), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.03.031>
- Pestana, J. M., Puerta, B., Santos, H., Madeira, M. S., Alfaia, C. M., Lopes, P. A., Pinto, R. M. A., Lemos, J. P. C., Fontes, C. M. G. A., Lordelo, M. M., & Prates, J. A. M. (2020). Impact of dietary incorporation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and exogenous enzymes on broiler performance, carcass traits, and meat quality. *Poultry Science*, 99(5), 2519–2532. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.069>
- Petracci, M., Bianchi, M., Mudalal, S., & Cavani, C. (2013). Functional ingredients for poultry meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 33(1), 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.06.004>
- Pinto da Rosa, P., Pio Ávila, B., Damé Veber Angelo, I., Garavaglia Chesini, R., Albandes Fernandes, T., da Silva Camacho, J., Bugoni, M., Roll, V. F. B., & Gularte, M. A. (2021). Impact of different chicken meat production systems on consumers' purchase perception. *British Poultry Science*, 62(3), 387–395. <https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1857335>
- Pravato, M. (2023). *Inclusione di Chlorella Vulgaris nell'alimentazione dei polli da carne: Effetti su prestazioni produttive e qualità del prodotto*. <https://hdl.handle.net/20.500.12608/48585>
- Raven, J. A., & Beardall, J. (2003). Carbohydrate metabolism and respiration in algae. In *Photosynthesis in algae* (pp. 205–224). Springer.

- Ribeiro, T., Lordelo, M. M., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Costa, P., Lemos, J. P. C., Ferreira, L. M. A., Fontes, C. M. G. A., & Prates, J. a. M. (2013). Direct supplementation of diet is the most efficient way of enriching broiler meat with n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *British Poultry Science*, *54*(6), 753–765. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.841861>
- Rostagno, M. H. (2020). Effects of heat stress on the gut health of poultry. *Journal of Animal Science*, *98*(4), skaa090. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa090>
- Saeed, M., Khan, M. S., Kamboh, A. A., Alagawany, M., Khafaga, A. F., Noreldin, A. E., Kumar, M., Safdar, M., Hussain, M., Abd El-Hack, M. E., & Chao, S. (2020). L-theanine: An astounding sui generis amino acid in poultry nutrition. *Poultry Science*, *99*(11), 5625–5636. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.07.016>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *35*, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Sardi, L., Martelli, G., Lambertini, L., Parisini, P., & Mordenti, A. (2006). Effects of a dietary supplement of DHA-rich marine algae on Italian heavy pig production parameters. *Livestock Science*, *103*(1), 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.01.009>
- Savory, C. J. (1980). Diurnal feeding patterns in domestic fowls: A review. *Applied Animal Ethology*, *6*(1), 71–82. [https://doi.org/10.1016/0304-3762\(80\)90095-4](https://doi.org/10.1016/0304-3762(80)90095-4)
- Sikiru, A. B., Arangasamy, A., Alemede, I. C., Egena, S. S. A., & Bhatta, R. (2019). Dietary supplementation effects of *Chlorella vulgaris* on performances, oxidative stress status and antioxidant enzymes activities of prepubertal New Zealand White rabbits. *Bulletin of the National Research Centre*, *43*(1), 162. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0213-8>
- Song, D. J., & King, A. J. (2015). Effects of heat stress on broiler meat quality. *World's Poultry Science Journal*, *71*(4), 701–709. <https://doi.org/10.1017/S0043933915002421>
- Sousa, I., Gouveia, L., Batista, A. P., Raymundo, A., & Bandarra, N. M. (2008). Microalgae in novel food products. *Food Chemistry Research Developments*, 75–112.
- Souza, L. F. A. de, Espinha, L. P., Almeida, E. A. de, Lunedo, R., Furlan, R. L., & Macari, M. (2016). How heat stress (continuous or cyclical) interferes with nutrient digestibility, energy and nitrogen balances and performance in broilers. *Livestock Science*, *192*, 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.08.014>
- Souza Queiroz, J., Marín Blasco, I., Gagliano, H., Daviu, N., Gómez Román, A., Belda, X., Carrasco, J., Rocha, M. C., Palermo Neto, J., & Armario, A. (2016). *Chlorella vulgaris* reduces the impact of stress on hypothalamic–pituitary–adrenal axis and brain c-fos expression. *Psychoneuroendocrinology*, *65*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.12.002>
- Surai, P. F., Kochish, I. I., & Kidd, M. T. (2020). Taurine in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, *260*, 114339. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114339>
- Treccani. (2023). *omeòstasi—Treccani*. Treccani. <https://www.treccani.it/vocabolario/omeostasi/>, <https://www.treccani.it/vocabolario/omeostasi/>
- UN, D. of E. and S. A. P. D. (2023). *World Population Prospects—Population Division—United Nations*. <https://population.un.org/wpp/>
- Uyanga, V. A., Oke, E. O., Amevor, F. K., Zhao, J., Wang, X., Jiao, H., Onagbesan, O. M., & Lin, H. (2022). Functional roles of taurine, L-theanine, L-citrulline, and betaine during heat stress in

- poultry. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00675-6>
- Valente, L. M. P., Cabrita, A. R. J., Maia, M. R. G., Valente, I. M., Engrola, S., Fonseca, A. J. M., Ribeiro, D. M., Lordelo, M., Martins, C. F., Falcão e Cunha, L., de Almeida, A. M., & Freire, J. P. B. (2021). Chapter 9—Microalgae as feed ingredients for livestock production and aquaculture. In C. M. Galanakis (A c. Di), *Microalgae* (pp. 239–312). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821218-9.00009-8>
- Valentine, R. C., & Valentine, D. L. (2004). Omega-3 fatty acids in cellular membranes: A unified concept. *Progress in Lipid Research*, 43(5), 383–402. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.05.004>
- Van Laack, R. L. J. M., Liu, C.-H., Smith, M. O., & Loveday, H. D. (2000). Characteristics of Pale, Soft, Exudative Broiler Breast Meat. *Poultry Science*, 79(7), 1057–1061. <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.1057>
- Vijayavel, K., Anbuselvam, C., & Balasubramanian, M. P. (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 303(1), 39–44. <https://doi.org/10.1007/s11010-007-9453-2>
- Wasti, S., Sah, N., & Mishra, B. (2020). Impact of Heat Stress on Poultry Health and Performances, and Potential Mitigation Strategies. *Animals*, 10(8), Articolo 8. <https://doi.org/10.3390/ani10081266>
- Weeks, C. A., Danbury, T. D., Davies, H. C., Hunt, P., & Kestin, S. C. (2000). The behaviour of broiler chickens and its modification by lameness. *Applied Animal Behaviour Science*, 67(1), 111–125. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(99\)00102-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(99)00102-1)
- Yan, L., & Kim, I. H. (2013). Effects of dietary ω -3 fatty acid-enriched microalgae supplementation on growth performance, blood profiles, meat quality, and fatty acid composition of meat in broilers. *Journal of Applied Animal Research*, 41(4), 392–397. <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.787361>
- Yan, L., Lim, S. U., & Kim, I. H. (2012). Effect of Fermented *Chlorella* Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Characteristics, Fecal Microbial and Fecal Noxious Gas Content in Growing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(12), 1742–1747. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12352>
- Zheng, L., Oh, S. T., Jeon, J. Y., Moon, B. H., Kwon, H. S., Lim, S. U., An, B. K., & Kang, C. W. (2012). The Dietary Effects of Fermented *Chlorella vulgaris* (CBT[®]) on Production Performance, Liver Lipids and Intestinal Microflora in Laying Hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(2), 261–266. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11273>