



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

TESI DI LAUREA

**VALUTAZIONE DELLA DEGRADABILITÀ E DELLA
PRODUZIONE DI GAS *IN VITRO* DI DIFFERENTI IBRIDI DI
SORGO E DI MAIS INSILATI PROVENIENTI DA DUE AZIENDE
DELLA PIANURA PADANA**

Relatore: **CH.MA PROF.SSA BAILONI LUCIA**

Correlatori: **DOTT. CATTANI MIRKO**

DOTT.SSA MACCARANA LAURA

Laureanda: **GIORGIA GIUNCO**

Matricola n. 1081454

ANNO ACCADEMICO 2014-2015

Indice

Indice	3
Riassunto	5
Abstract	7
1. Introduzione	9
1.1 <i>Il mais</i>	9
1.1.1 <i>Destinazione e produzione mondiale, europea e italiana del mais</i>	9
1.1.2 <i>Morfologia della pianta di mais e classificazione</i>	10
1.1.3 <i>Tecniche colturali</i>	12
1.1.4 <i>Malattie e micotossine</i>	13
1.2 <i>Il sorgo</i>	17
1.2.1 <i>Destinazione e produzione mondiale, europea e italiana</i>	17
1.2.2 <i>Morfologia della pianta di sorgo e classificazione</i>	18
1.2.3 <i>Tecniche colturali</i>	20
1.2.4 <i>Avversità e infestanti</i>	20
1.2.5 <i>Il sorgo come alternativa</i>	21
1.3 <i>L'insilamento</i>	22
1.4 <i>Tecniche per valutare la digeribilità degli alimenti e delle diete nei ruminanti</i>	24
1.4.1 <i>Stima della digeribilità in vivo</i>	24
1.4.2 <i>Stima della digeribilità in situ</i>	25
1.4.3 <i>La digeribilità in vitro</i>	26
2. Obiettivi	27
3. Materiale e metodi	29
3.1 <i>Insilati utilizzati</i>	29
3.2 <i>Tecniche per la stima della digeribilità in vitro</i>	31
3.2.1 <i>Prelievo liquido ruminale</i>	32
3.2.2 <i>ANKOM Daisy^{II} Incubator</i>	32
3.2.3 <i>ANKOM^{RF} Gas Production System</i>	34
3.3 <i>Procedure di calcolo</i>	37
3.4 <i>Analisi statistica</i>	38
4. Risultati e Discussione	39
4.1 <i>Composizione chimica degli insilati</i>	39
4.2 <i>Livelli di pH, profilo acidico e N-NH₃/N degli insilati in prova</i>	41
4.3 <i>Degradabilità, produzione di gas e valori energetici in vitro</i>	43
4.3.1 <i>ANKOM^{RF} Gas Production System</i>	43

4.3.2 ANKOM Daisy ^{II} Incubator	48
4.3.3 Confronto tra NDFd ottenuta con due modalità diverse	50
5. Conclusioni	51
6. Bibliografia	53
6.1 Sitografia	58
Ringraziamenti	59

Riassunto

Lo scopo di questa sperimentazione è stato quello di valutare la degradabilità, la produzione di gas e il valore nutritivo di quattro ibridi di sorgo insilati (sorgo da foraggio “Bulldozer” e “Freya”; sorgo da granella “Favorite”; sorgo zuccherino “Surgo”) e un ibrido di mais insilato (Kolosseus), provenienti da due zone di coltivazione diversa (Caorle, VE e Ceregnano, RO), dopo un periodo di insilamento in minisilo.

Le stime della degradabilità dell’NDF e della sostanza secca (NDFd e TDMd, %) e della produzione di gas (GP, ml/g di SS incubata) sono state effettuate mediante l’impiego di due diverse tecniche *in vitro* basate sulla fermentazione ruminale degli alimenti in condizioni controllate (ANKOM Daisy^{II} Incubator e ANKOM^{RF} Gas Production System), considerando un tempo di incubazione di 48 h. Il contenuto di energia metabolizzabile (EM) è stato calcolato partendo dai valori di NDFd a 48 h e dai valori di GP a 24 h. L’energia netta di lattazione (EN_L) è stata calcolata a partire dalla GP a 24 h.

L’analisi statistica ha preso in considerazione l’effetto dell’azienda, dell’ibrido e l’interazione tra l’azienda e l’ibrido; nel caso dei dati rilevati con le due strumentazioni si è tenuto conto anche dell’effetto dell’incubazione.

La composizione chimica degli insilati è stata influenzata dall’azienda di provenienza e per gli insilati di sorgo è stato rilevato un maggiore contenuto di fibra e un minor contenuto di amido con una conseguente diminuzione della fermentescibilità *in vitro* (NDFd, TDMd, GP e valore energetico) rispetto all’insilato di mais (P<0,001).

Gli ibridi di sorgo appartenenti alla tipologia “da foraggio” (Bulldozer e Freya), hanno mostrato un maggior valore di NDFd e un basso valore di GP e contenuto energetico rispetto alle altre due tipologie (da granella “Favorite” e zuccherino “Surgo”) di sorgo (P<0,001). Gli stessi ibridi hanno però compensato questi dati con una maggiore resa di biomassa per ettaro.

Come atteso, l’ibrido “da granella” ha dimostrato dati di degradabilità e di valore energetico che si avvicinano maggiormente all’insilato di mais mentre l’ibrido “zuccherino” ha presentato caratteristiche intermedie tra la tipologia da “granella” e quella “da foraggio”.

In conclusione, gli ibridi di sorgo possono essere utilizzati come alternativa all’insilato di mais nell’alimentazione dei ruminanti, ma il razionamento deve tener conto delle caratteristiche di ciascun ibrido in termini di apporto di amido e di fibra. Relativamente alla fibra, si può concludere che il sorgo presenta una elevata percentuale di carboidrati strutturali, caratterizzati

però generalmente da una buona degradabilità ruminale. Per questo motivo questi foraggi possono essere introdotti in diete destinate a giovane bestiame o a vacche in asciutta.

Abstract

Evaluation of *in vitro* degradability and gas production of different hybrids of sorghum and corn silages obtained in two farms of Po Valley.

The aim of this trial was to evaluate the degradability, the gas production and the nutritional value of four hybrids of sorghum silage (forage sorghum “Bulldozer” and “Freya”; grain sorghum “Favorite”; sweet sorghum “Surgo”) and a hybrid corn silage (Kolosseus), from two different growing areas: Caorle (VE) and Ceregnano (RO), after an ensiled time into hermetic bins.

Degradability of NDF (dNDF, %) and true DM (dTDM, %) estimates and gas production estimates (GP, ml/g DM incubated) were made with two different *in vitro* techniques. These techniques are based to rumen fermentation of feed at controlled conditions (ANKOM Daisy^{II} Incubator and ANKOM^{RF} Gas Production System). Each incubation lasted 48 hours. Metabolizable energy content of silages was computed from dNDF at 48 h or GP at 24 h. Net energy of lactation (NE_L) was computed from GP at 24 h. Data were statistically analysed considering farm, hybrid, and their interaction as variation sources. Run effect was considered as a criteria too.

Chemical composition of silages was influenced by farm. Compared to corn silage, sorghum silages contained more NDF and less starch, and showed lower dNDF, dTDM, GP and energy content (P<0,001).

Among sorghums, forage-type sorghums (Bulldozer and Freya) showed a greater dNDF but a lower GP and energy content than grain and sweet types (Favorite and Surgo) (P<0,001). However, the same hybrids offset these data whit higher yield per hectare.

As expected, grain sorghum showed rumen degradability and energy content data similar to corn silage. Besides, sweet sorghum showed middle features between grain and forage type sorghums.

In conclusion, sorghum hybrids should be use as an alternative corn silage in ruminant feeding. However, the formulation of ration must consider each hybrid characteristics as supply of starch and fiber.

Compared to fiber, it can be concluded that the sorghum show a high percentage of structural carbohydrates. They are defined by a good rumen fermentescibility. Therefore, these forages could be introduce into young animals and dry cows ration.

1. Introduzione

1.1 Il mais

1.1.1 Destinazione e produzione mondiale, europea e italiana del mais

Il mais (*Zea mays L.*) è uno dei cereali più diffusi e coltivati al mondo, dopo il frumento ed il riso, poiché ha una grande capacità di adattarsi ad ambienti diversi. Le sue utilizzazioni spaziano dall'alimentazione umana, all'alimentazione zootecnica, alla trasformazione industriale. In campo zootecnico il mais può essere utilizzato come pianta intera insilata (silomais), come granella (sulla quale possono essere effettuati trattamenti meccanici, termici, idrici, idro-termici e chimici) o come sottoprodotto (residui di lavorazione), poiché la maggior parte di questi prodotti presentano un contenuto elevato di energia netta utilizzabile per l'accrescimento e la lattazione.

I prodotti che derivano dalla trasformazione industriale sono svariati: il mais può essere utilizzato per estrarre amido ed olio, nella distillazione, nella produzione della birra, di sciroppi (dolcificanti) ottenuti da idrolisi, per produrre vernici, ceramiche, esplosivi ed è anche usato nel settore chimico, farmaceutico e tessile. Si può usare anche per la produzione di etanolo puro o miscelato con la benzina per l'autotrazione.

Nell'area occidentale questa coltura è diventata il principale alimento per diverse specie animali allevate a scopi produttivi ma è stata quasi abbandonata nell'alimentazione umana (Avogaro *et al.*, 1983).

In Italia circa l'86% del mais e dei suoi derivati vengono impiegati per uso zootecnico, 82% è mais coltivato e circa il 4% è mais che deriva come sottoprodotto dall'industria dell'amido nel settore dei mangimi. Nell'alimentazione dei ruminanti (bovini da carne e da latte e piccoli ruminanti) il mais viene usato come: i) pianta intera, trinciata e insilata, ii) pastone di pannocchia o di granella, per l'elevata appetibilità, buona digeribilità e basso costo; iii) granella di mais (intera, farina, fioccata, estrusa,...), per l'elevato contenuto energetico (Anfuso *et al.*, 2006).

L'annata agraria 2013-2014 ha ottenuto un record storico per quanto concerne la produzione mondiale di mais, 988.500.000 tonnellate, con un aumento di circa 113.000.000 tonnellate rispetto all'annata 2012-2013.

Come riporta Assomais nel suo report del 2015, dal 1960 ad oggi la produzione di mais è quadruplicata, perché questo cereale ha un alto valore aggiunto e viene usato come biocombustibile.

A livello italiano, nel 2013 la superficie destinata a mais ha avuto un calo del 7% e nel 2014 ha avuto un ulteriore calo del 6%, passando rispettivamente da 908.000 a 858.000 ha.

La produzione nel 2013 si aggirava su 7.900.000 tonnellate, stabile, ma è il peggior dato dal 1994, nel 2014 si ha avuto un lieve recupero arrivando a circa 8.300.000 tonnellate raggiungendo la produzione ottenuta nel 2009.

Anche le rese, nelle annate 2013 e 2014 sono aumentate rispettivamente di 87 q/ha e di 97 q/ha.

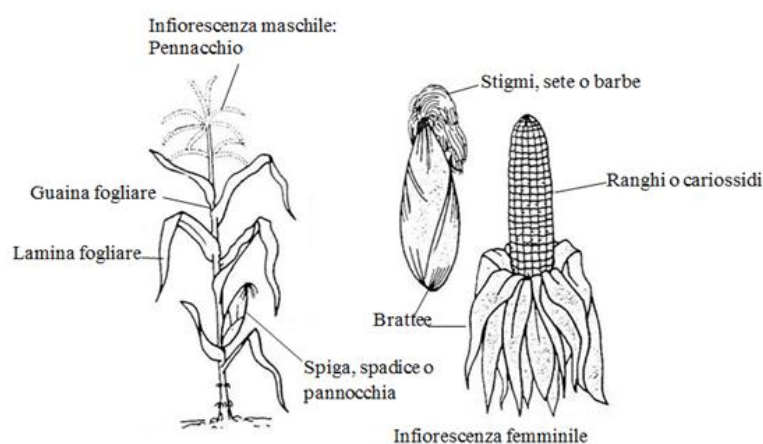
Le importazioni nette dell'annata 2013 (ottobre 2012-settembre 2013) sono state di 4.571.000 tonnellate con un autoapprovvigionamento del 63,3% (Frisio, 2015).

Questo calo di produzione è dovuto a diversi fattori: i) eventi climatici avversi come la siccità e le piogge primaverili prolungate; ii) stagnazione delle rese; iii) calo delle quotazioni; iv) problemi fitosanitari. Per aumentare le rese, è necessario gestire i problemi fitosanitari e quindi migliorare le tecniche colturali (Assomais, 2015).

1.1.2 Morfologia della pianta di mais e classificazione

Il mais fa parte della famiglia delle *Poaceae*, e come si vede dalla Figura 1, si costituisce di:

Figura 1. Pianta di mais e spadice



- *Apparato radicale* di tipo fascicolato che comprende radici seminali (dopo le prime settimane di crescita esauriscono la loro funzione) e radici avventizie (ipogee ed epigee);

- *Fusto* o *culmo* costituito da *nodi* e *internodi*, può raggiungere i 2-3 m di altezza con un diametro di 3-4 cm e possedere da 8 a 21 internodi;

- *Foglie* presenti singolarmente a livello dei nodi, distribuite in due file opposte sul culmo e il numero può variare da 12 a 18. La foglia si compone di tre parti: la *guaina* che circonda quasi completamente l'internodo sovrastante il nodo d'origine, la *lamina* che rappresenta la foglia vera e propria di forma lanceolata, la *ligula* che è posta tra la guaina e la lamina, fascia il fusto ostacolando l'entrata dell'acqua e dei parassiti (Battilani *et al.*, 2013).

La pianta del mais è monoica diclina cioè presenta sia i fiori maschili sia i fiori femminili portati da infiorescenze separate.

L'infiorescenza maschile è chiamata *pennacchio*, si trova sulla parte apicale del culmo, si può presentare compatta o ramificata, eretta o pendula. Le spighe che la compongono sono costituite da due fiori con tre stami.

L'infiorescenza femminile è detta *spiga* o *spadice*, viene chiamata volgarmente *pannocchia* e si trova al 6°-7° nodo sotto il pennacchio. È formata da spighe portate sul *rachide* (o *tutolo*), in file o ranghi. Le spighe sono disposte in file abbinde, e quindi, il numero di *ranghi* è sempre pari. Esso può variare, di solito si aggira su 12-16. La spiga è coperta da foglie modificate chiamate *brattee*.

La fioritura inizia con la deiscenza del polline dei fiori maschili seguita, dopo 2-3 giorni, dall'emissione degli stigmi nelle infiorescenze femminili. Gli stigmi chiamati anche *sete* o *barbe* spuntano dalle brattee scalarmente.

Dopo la fecondazione (10-12 giorni) si ha prima la formazione dell'embrione e poi la granigione (caratterizzata dall'accumulazione dell'amido nell'endosperma delle cariossidi in via di formazione).

Le cariossidi dopo 40-45 giorni dalla fecondazione (maturazione cerosa) diventano consistenti, amidacee, pastose, con un contenuto d'acqua del 40-45%, e le brattee cominciano ad ingiallire, questo è il momento per la raccolta del mais da destinare all'insilamento. Segue la maturazione fisiologica dove la granella contiene 30-45% di acqua, raggiunge il massimo peso secco, e può essere raccolta.

Le fasi dello sviluppo del mais variano a seconda della costituzione genetica e alle condizioni climatiche come la temperatura, il fotoperiodo e l'umidità) (Tabella 1) (Avogaro *et al.*, 1983).

Tabella 1. Classificazione FAO. Numero di giorni con cui il mais matura

Classe FAO	Giorni di maturazione	Precocità
100	Non utilizzata in Italia	
200	86-95	Precocissimo
300	96-105	Precoce
400	106-116	Medio-precocità
500	116-120	Medio
600	121-131	Medio-tardivo
700	132-140	Tardivo
800	Non utilizzata in Italia	

Il mais secondo Sturtevant e Kuleshov è stato classificato sulla base delle caratteristiche morfologiche e chimiche della granella:

- *Zea mays* sub-sp. *Everta*: è il mais da pop corn. In Italia non ha molta importanza;
- *Zea mays* sub-sp. *Indurata*: mais vitreo, ha endosperma farinoso;
- *Zea mays* sub-sp. *Identata*: con l'introduzione degli ibridi tale forma di mais è la più diffusa;
- *Zea mays* sub-sp. *Amylacea*: ha un contenuto di amido che si aggira tra il 50-80%. È adatto all'estrazione di amido speciale;
- *Zea mays* sub-sp. *Ceratina*: è utilizzato come alimento dietetico e nell'industria tessile e cartiera;
- *Zea mays* sub-sp. *Saccharata*: mais zuccherino che contiene poco amido e molti carboidrati solubili;
- *Zea mays* sub-sp. *Amyleo-saccharata*: non ha un ruolo importante in agraria (Avogaro *et al.*, 1983).

1.1.3 Tecniche colturali

Il mais ha una semina primaverile. Nello schema tradizionale è inserito nella rotazione con grano e colture miglioratrici (erba medica, soia, trifoglio,...), così da trarre vantaggio da quest'ultime poiché apportano miglioramenti chimico-fisici al terreno. La tendenza in atto, fino al termine dell'anno 2014, è stata una semplificazione colturale, quindi l'abbandono delle rotazioni e la coltivazione in monosuccessione di soli cereali. Questo tipo di avvicendamento ha dei vantaggi se si hanno esigenze di bilancio o esigenze organizzative, ma porta anche a molti svantaggi come: i) il peggioramento dei nutrienti in relazione alle concimazioni e della struttura del terreno; ii) difficoltà nel controllare le malerbe e nella prevenzione delle fitopatie e insetti

dannosi; iii) aumento delle specie micotossigene; iv) maggior impatto ambientale e un aumento dei costi che derivato da un maggior impiego di mezzi tecnici (Assomais, 2015).

Con la nuova Pac 2015-2020 (Disposizioni nazionali di applicazione del Regolamento UE n. 1307/2013) torna in auge la rotazione colturale sotto la voce *greening*, la quale prevede una diversificazione colturale per le aziende con superficie a seminativo. Le aziende comprese tra i 10 e i 30 ha hanno l'obbligo di coltivare almeno due colture mentre le aziende oltre i 30 ha hanno l'obbligo di coltivare almeno tre colture.

Le lavorazioni del terreno hanno la funzione di mantenere una buona struttura, fornire un buon letto di semina e contribuire alla lotta contro le malerbe. Esse variano in base all'ambiente, alla tipologia di terreno, alla precisione colturale, alla tipologia di infestanti e al grado di inerbimento. Il terreno dev'essere omogeneo e deve trattenere grandi quantitativi d'acqua senza creare ristagni e riscaldarsi facilmente. Con le lavorazioni tradizionali il terreno viene prima sottoposto ad aratura profonda (si tende a non superare i 25-30 cm), seguono poi le lavorazioni per la preparazione del letto di semina (superficiali) (Assomais, 2015).

La semina in prima coltura, viene effettuata a marzo-aprile quando la temperatura del terreno raggiunge i 12 °C e avviene ad una profondità che varia dai 40 ai 60 mm in base al terreno.

Per ottenerne una buona produzione bisogna considerare una giusta e regolare densità di piante a m², questo parametro varia dal tipo di coltura che si vuole ottenere. Per un investimento standard si coltivano 7,5 piante/m², mentre, per un alto investimento (per massimizzare la resa di granella per unità di superficie) si coltivano 10 piante/m² (Assomais, 2015).

Il coefficiente di evapotraspirazione del mais è di 250 kg H₂O x kg SS e per ottenere rese elevate e costanti negli anni servono interventi irrigui lungo tutto il ciclo colturale. Questa coltura è sensibile alla mancanza d'acqua 15-20 giorni prima della fioritura fino a 30 giorni dopo la fioritura, infatti uno stress idrico in questo periodo porta a una riduzione delle rese anche del 50-60% (Assomais, 2015).

1.1.4 Malattie e micotossine

MALATTIE. I fattori che interagiscono e causano la diffusione e la gravità delle malattie infettive nel mais sono:

- le **condizioni ambientali** dell'atmosfera e del terreno che interagendo con il parassita e con la pianta, possono modificare lo sviluppo delle malattie. La temperatura dell'aria e del

terreno, l'umidità relativa, la rugiada, la bagnatura fogliare, le piogge, il tipo di suolo, il pH e la fertilità sono i fattori principali;

- la **suscettibilità della pianta ospite** (il mais), è il saper resistere e tollerare le malattie, questo fattore è in relazione con gli ibridi e le varietà utilizzate. La tolleranza è il saper ridurre i danni causati dall'infezione del patogeno, può essere aumentata combinando diversi geni mentre la resistenza è la capacità della pianta di contrastare l'infezione causata dal parassita;

- la **presenza di un patogeno virulento** come batteri virus e micoplasmi.

La maggior parte dei *batteri* sono privi di clorofilla e vivono in forma saprofitica, si adattano a differenti condizioni di vita e riescono a penetrare nei tessuti della pianta attraverso le ferite prodotte da agenti atmosferici, insetti, animali, uomo e le aperture naturali della pianta. Sono sistematici, si diffondono su tutta la pianta. Le condizioni ottimali per lo sviluppo e l'infezione della malattia sono la presenza di acqua sugli organi della pianta e le temperature non elevate. I batteri nella pianta si possono moltiplicare velocemente provocando: necrosi (morte delle cellule), tumori (sviluppo anomalo dei tessuti), avvizzimento (ostruzione dei tessuti vascolari) o marciumi molli (decomposizione dei tessuti), possono produrre anche enzimi o tossine causando clorosi e aspetto traslucido. Restano in uno stato quiescente se le condizioni ambientali sono sfavorevoli, però poche specie patogene sopravvivono nel terreno perché vengono uccise da alte temperature (50 °C per pochi minuti) e dalla luce solare.

I *virus* si compongono di macromolecole di RNA o DNA racchiuse da una capsula protettiva proteica o lipoproteica. Vengono trasmessi attraverso l'impollinazione effettuata da insetti e nematodi e da piante parassite. Attraverso le lesioni o azioni dell'uomo avviene l'inoculazione all'interno della pianta. Le infezioni danno luogo a svariata sintomatologia come rallentamenti di sviluppo, ramificazioni eccessive, clorosi, ingiallimento o arrossamento fogliare, necrosi. Le malattie provocate da virus non sono molto numerose ma possono provocare molteplici danni alla produttività.

I *fitoplasmi* sono organismi procarioti, non hanno parete cellulare rigida e sono pleomorfi, molti resistono alla penicillina e sono sensibili alla tetraciclina. Provocano arrossamento o ingiallimento della pianta, accorciamento degli internodi, fillodia, sterilità, virescenza, stentato sviluppo delle radici, formazione di scopazzi. Sono trasmessi da insetti, cicaline (prediligono piante che crescono in ambienti siccitosi e caldi), da cuscuta, innesto o propagazione agamica di materiale proveniente da piante malate.

Questi fattori devono essere in equilibrio tra loro per causare lo sviluppo e la diffusione della malattia. Sono indispensabili insetti o altri vettori per la diffusione e/o infezione di alcuni parassiti (Battilani *et al.*, 2013).

MICOTOSSINE. Il mais può essere contaminato da *aflatossine*: questo problema è emerso in tutta la sua gravità nel 2003, annata particolarmente calda che ha portato ad una diffusione di *Aspergillus flavus* e quindi di *aflatossine* (Anfuso *et al.*, 2006).

Le micotossine sono sostanze dannose che possono causare effetti tossici, acuti o cronici agli animali e all'uomo, e che derivano dal metabolismo di muffe o funghi. La formazione di queste sostanze può avvenire in campo, ovvero sulla pianta, oppure durante le fasi di conservazione, infatti, dopo la crescita vegetativa e la morte del fungo possono resistere per lungo tempo. Oltre a produrre micotossine i funghi possono provocare anche impaccamenti e una riduzione quantitativa e qualitativa delle scorte alimentari. La produzione è legata alla crescita dei funghi che dipende da: i) umidità; ii) temperatura; iii) natura del substrato; iv) attacco degli insetti; v) stress della pianta; vi) danni meccanici (Battilani *et al.*, 2013).

La presenza di micotossine nel mais usato nell'alimentazione degli animali può dare origine a due problemi, il primo riguarda la salute e il benessere degli animali, il secondo riguarda la tutela e la sicurezza dei consumatori quando quest'ultimi consumano prodotti di origine animale (Anfuso *et al.*, 2006).

Sono conosciute circa quattrocento micotossine ma non tutte sono dannose e quindi di interesse; quelle che preoccupano di più sono le *Aflatossine*, le *Ocratossine* e le *Fusarium-tossine*. I funghi che producono questi tipi di micotossine si trovano all'interno dei generi *Aspergillus*, *Penicillium*, e *Fusarium* (Anfuso *et al.*, 2006 e Battilani *et al.*, 2013).

I principali funghi tossigeni responsabili della produzione di micotossine nel mais sono riportati in Tabella 2 (Battilani *et al.*, 2013).

Tabella 2. Principali funghi del mais con relativa micotossina prodotta (Battilani *et al.*, 2013)

Funghi	Micotossine prodotte
Genere <i>Aspergillus</i>	
A. flavus	Aflatossine B ₁ , B ₂ , Acido ciclopiazonico
A. parasiticus	Aflatossine B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
A. ochraceus	Ocratossina A, Citrinina, Acido penicillico
Genere <i>Fusarium</i>	
F. graminearum, F. culmorum, F. poae, F. sporotrichioides	Tricoteceni (Deossinivalenolo, Nivalenolo, Diacetossiscirpenolo, T-2, HT-2), Zearalenone
F. verticillioides (F. moniliforme), F. proliferatum	Fumonisine
Genere <i>Penicillium</i>	
P. verrucosum	Ocratossine

I funghi che vengono maggiormente ospitati dal mais sono *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum* e *Aspergillus flavus*, e sono i principali responsabili delle tossine più diffuse al mondo rispettivamente *deossinivalenolo* (DON) e *zearalenone* (ZEA), *fumonisine* (FB) e *aflatossine* (AFB).

In base alle loro caratteristiche, all'andamento meteorologico, all'ambiente e all'annata, la rilevazione di queste sostanze è diversa. Nell'ambiente italiano le FB sono le più importanti e rappresentano un problema quasi tutti gli anni mentre DON, ZEA, AFB si presentano occasionalmente.

Le condizioni climatiche possono influire indirettamente, ponendo la coltura in stress e quindi suscettibile agli attacchi.

Fusarium verticillioides provoca il marciume rosa della spiga del mais, si manifesta da prima nella parte apicale della spiga con una muffa biancastra e poi si diffonde sulle rosure della piralide. *Fusarium proliferatum* presenta sintomatologia simile al primo. Richiedono temperature elevate per produrre tossine. Le condizioni di stress della pianta dovute alla concimazione azotata non equilibrata, eccessiva densità di semina, presenza di infestanti, scarsità d'acqua, andamento stagionale e terreni sabbiosi favoriscono l'accumulazione delle tossine. *Fusarium graminearum* si manifesta nelle annate fresche e piovose. *Aspergillus flavus* produce sulla spiga muffe di colore giallo-verde o verde-bruno.

Livelli elevati di AFB si presentano con condizioni di stress idrico e vengono prodotte con temperature che vanno da 8 a 42 °C (Battilani *et al.*, 2013).

Le micotossine più diffuse e pericolose per la salute sono riportate nella Tabella 3 con i relativi effetti tossici principali.

Tabella 3. Principali effetti tossici di alcune micotossine potenzialmente presenti nel mais (Battilani *et al.*, 2013)

Micotossina	Effetto tossico
Aflatossina B ₁	Genotossico, cancerogeno, epatotossico, immunosoppressore negli animali
Fumonisin B ₁	Neurotossico, cancerogeno, citotossico negli animali e nell'uomo
Ocratossina A	Nefrotossico, teratogeno, immunosoppressore, cancerogeno
Tricoteceni	Immunosoppressore, dermatotossico, emorragico (particolarmente nei suini)
Zearalenone	Estrogeno-simile (particolarmente nei suini)

1.2 Il sorgo

1.2.1 Destinazione e produzione mondiale, europea e italiana

Il sorgo (*Sorghum vulgare*) è un cereale appartenente alla famiglia delle *Poaceae*. Ci sono reperti che riportano coltivazioni di sorgo anche nel 2200 a.C. Si ritiene che il sorgo sia stata una delle prime piante ad essere coltivata. Le forme attuali di questa coltura hanno origine migliaia di anni fa dall'Africa centro-orientale.

La selezione nei primi periodi ha puntato sulla produzione di granella e meno sul foraggio, negli ultimi cento anni però si stanno selezionando varietà da foraggio (Newman *et al.*, 2010).

Viene coltivato, in prevalenza in zone aride e semiaride, per la produzione di granella da destinare all'alimentazione umana e di foraggio da destinare all'industria mangimistica.

Si sta diffondendo negli ultimi anni perché i derivati possono essere usati nell'alimentazione umana dai celiaci in quanto la granella è priva di glutine. Il sorgo da biomassa viene usato per la produzione di trinciato in alternativa all'insilato di mais negli impianti a biogas (Buccafusca *et al.*, 2013).

Nell'annata 2013 nel mondo sono state prodotte 62.295.137 tonnellate di sorgo. Secondo USDA, 2015, ad aprile dell'annata agraria 2014-2015 si è arrivati a produrre 64.158.000 tonnellate.

I maggiori paesi produttori di sorgo sono gli Stati Uniti d'America con più di 11.600.000 tonnellate, segue l'India con una produzione di circa 7.770.000 tonnellate e la Nigeria con 7.400.000 tonnellate.

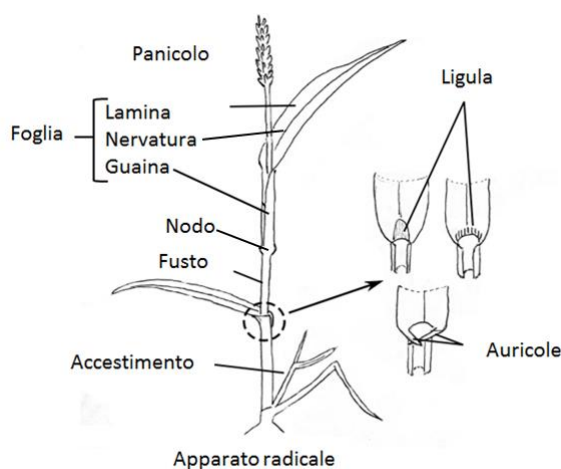
L'Europa, con una produzione inferiore a tutti i 5 continenti (2%), ha prodotto, nel 2013, 1.251.870 tonnellate.

In Italia nella stessa annata sono state prodotte 316.919 tonnellate di sorgo; dal 2003 al 2013 la produzione è cresciuta del 4% all'anno (FAO, 2015).

1.2.2 Morfologia della pianta di sorgo e classificazione

La pianta di sorgo, come rappresentato in Figura 2, si costituisce di:

Figura 2. Pianta di sorgo



- *Apparato radicale* fascicolato, espanso sia in profondità (più di 1,50 m) sia lateralmente (più di 2 m) e quindi ha un'elevata capacità di assorbire dal terreno acqua e sostanze nutritive;
- *Fusto* o *culmo* con portamento eretto, caratterizzato da nodi in numero variabile (7-24) in base al genotipo. A seconda della varietà, il fusto può avere un'altezza variabile da 1-1,5 m fino a più di 5 m. Le gemme presenti sui nodi basali germogliando danno origine a culmi di accestimento. Gli internodi sono pieni di midollo fibroso o succulento;
- *Foglie*, parallelinervie con lamina larga e inguainanti il culmo. I margini del lembo sono finemente dentellati e la presenza di pruina, di stomi piccoli e cutinizzazione conferiscono alle foglie una grande capacità di risparmiare acqua.

La pianta è dotata di panicoli terminali, compatti, spargoli, reclinati, di dimensione e forma variabile. Nelle varietà da granella la lunghezza dell'internodo che sostiene il panicolo è importante per la meccanizzazione della raccolta. I fiori, tipici delle *Poaceae*, hanno ovario monocarpellare supero, stilo biforcuto, stigma piumoso e tre stami con antere bilobate. La fecondazione è autogama. Un panicolo può portare a maturazione da 1.500 a 2.500 cariossidi.

Le caratteristiche morfologiche della cariosside sono molto variabili sia nella forma (tondeggiante, apiculata), sia nella colorazione (bianco, arancio, rosato, rosso, marrone) e sia nell'aderenza delle glume al frutto (nude o vestite) (Buccafusca *et al.*, 2013).

In base alla destinazione, Buccafusca *et al.* (2013) hanno classificato il sorgo come segue:

- Da foraggio:
 - *Sudan grass*: destinato a produrre biomassa, ha culmi esili e notevole accestimento.

Produce poco seme, per il suo tasso di accestimento, a volte è utilizzato nei pascolo temporanei (Newman *et al.*, 2010);

- *Saccharatum*: destinato all'insilamento, ha elevato tenore di zuccheri.

Crescono fino a 2,5-3 m e hanno steli con diametro grande. Questo tipo di sorgo è stato selezionato per produrre un solo raccolto. È in grado di dare rese simili all'insilato di mais anche se il foraggio generalmente è di qualità inferiore. Possono produrre un foraggio contenente fino al 50% in peso di granella a seconda dell'ibrido e allo stadio di maturazione al momento della raccolta (Newman *et al.*, 2010);

- Da granella:
 - Ibridi diversi: piante basse (1-1,5 m), accestimento limitato, granella nuda, assenza di tannini.

In Europa viene coltivato prevalentemente in Francia e in Italia (seconda solo per superficie) con una produzione pressoché simile. A livello nazionale si coltiva prevalentemente in alcune regioni del centro e del nord, in una superficie complessiva che fa in modo che questo tipo di sorgo rivesta il 4° posto per importanza dopo frumento, orzo e mais. Viene coltivato negli ultimi anni anche nei terreni con elevata fertilità; se coltivato senza sistemi di irrigazione si possono ottenere produzioni simili o più elevate a quelle del mais. La granella trova interesse nei mangimifici poiché risulta un ottimo sostituto del mais nelle razioni del broiler. Ultimamente viene coltivato per sostituire l'insilato di mais (Regione Lombardia, 2011);

- Da scope:
 - *Technicum*: panicoli con ramificazioni molte lunghe;
- Da fibra:
 - *Technicum* o suoi ibridi con tipi diversi: pianta molto alta (2-5m);
- Da zucchero:
 - *Saccharatum*: midollo dei culmi ricco di saccarosio (15-20%);
 - *Sorghum bicolor*: viene coltivato soprattutto per il succo dolce che viene estratto dal culmo della pianta. I culmi vengono schiacciati e il succo estratto è cotto fino ad ottenere uno sciroppo denso e viscoso, chiamato erroneamente "melasso di sorgo". Il Commonwealth assieme agli Stati limitrofi produce più del 90% della produzione totale di sciroppo di sorgo dolce. Suoli

argillosi e suoli limoso-sabbiosi sono i migliori per la crescita. Può essere coltivato dopo mais o soia ma non dopo il tabacco. Tollera la siccità e le temperature elevate ma non tollera le basse temperature (Bitzer e Pfeiffer, 2013).

1.2.3 *Tecniche colturali*

Il sorgo è una coltura macroterma, per la germinazione del seme richiede una temperatura del terreno di almeno 14 °C, per la levata e la fioritura 26-30 °C (riesce a sopportare fino a 38°C), richiede inoltre elevata intensità luminosa durante tutto il ciclo vitale. Ha un'elevata resistenza alla siccità e allo stress idrico dovuta alle caratteristiche morfologiche, ma è sensibile alla carenza idrica nella fase che va dalla botticella (pre-spigatura) all'inizio della maturazione della granella. Va in stasi vegetativa se la carenza idrica è intensa e prolungata. Si adatta ai diversi tipi di terreno, sia alle caratteristiche strutturali, sia al pH e alla salinità; non si adatta invece a terreni soggetti a ristagno idrico perché asfittici e freddi (Buccafusca *et al.*, 2013).

1.2.4 *Avversità e infestanti*

Le avversità meteorologiche e in particolar modo l'eccessiva piovosità durante la germinazione e le basse temperature all'inizio della vegetazione possono danneggiare la coltura, provocando diradamenti e nascite scalari compromettendo l'uniformità. Eventi temporaleschi possono provocare allettamenti (ripiegamento dei culmi verso terra). Gli allettamenti si verificano nelle varietà a maggior sviluppo vegetativo (da foraggio) e non sulle varietà da granella, le quali sono più basse e vigorose. L'allettamento è un fenomeno negativo perché l'interruzione della dominanza apicale determina la nascita di germogli avventizi e si ripercuote sulla raccolta, crea anche problemi di tipo fitosanitario poiché il panicolo va a contatto con il suolo e può essere attaccato da patogeni.

La coltura del sorgo può essere attaccata da diabrotica e piralide. La diabrotica (*Diabrotica virgifera virgifera*) è un parassita, le larve danneggiano l'apparato radicale mentre gli adulti danneggiano l'apparato aereo delle piante. La piralide (*Ostrinia nubilalis*), invece, è un insetto che attacca la parte aerea delle colture (Anfuso *et al.*, 2006).

Il sorgo consente di contenere i costi di produzione delle irrigazioni e dei trattamenti fitoiatrici, dove c'è una presenza elevata di piralide e diabrotica. Il modo più efficace e sostenibile per controllare la diabrotica è intervallare la monocoltura di mais con il sorgo in quanto risulta un ospite poco gradito (Buccafusca *et al.*, 2013).

Gli uccelli possono rappresentare un danno poiché si posano sui panicoli consumando le cariossidi in formazione, eccetto nel caso in cui le granelle siano ricche in tannini. La presenza di tannini, tuttavia, è da considerarsi negativa in quanto essi riducono la digeribilità della proteina presente. Pertanto, il valore limite (tenore di tannino) posto dall'U.E. per la commercializzazione della granella di sorgo è dello 0,30% per kg di materia secca (Regolamento CEE, n.1028/84).

L'*Abutilon theophrasti*, chiamato volgarmente *cencio molle*, può infestare la coltura di sorgo, vive per anni nel terreno ed è in grado di germinare in tutti i periodi crescendo rapidamente soprattutto nei mesi estivi. Un'altra infestante è il *Sorghum halapense* detta *sorghetta* (Buccafusca *et al.*, 2013).

Nel Sud degli Stati Uniti, *Claviceps purpurea* o *Ergot* è l'unica malattia che ha causato danni significativi al sorgo da foraggio negli ultimi anni. È raro che una o più malattie causino danni seri o perdite economiche al sorgo. La gestione delle malattie nelle piantagioni di sorgo è attenuata da un adeguato periodo di semina e dalla rotazione delle colture (Newman *et al.*, 2010).

1.2.5 Il sorgo come alternativa

Il sorgo, che tollera alte temperature e siccità, può essere una coltura alternativa al mais nelle aree marginali non irrigue, dove l'approvvigionamento di acqua di irrigazione è limitato durante lo sviluppo delle colture (Berenguer e Faci, 2001; Buccafusca *et al.*, 2013).

La Regione Lombardia nell'annata 2011 è stata caratterizzata da modeste o inesistenti precipitazioni nei mesi di aprile e maggio. Durante questo periodo si sono verificate emergenze scalari o ritardate le quali sono andate ad uniformarsi durante la stagione. Il sorgo anche con le poche precipitazioni avvenute fino a luglio non ha risentito dell'andamento della stagione, ha arrestato l'attività vegetativa con il relativo rallentamento dell'accumulo di sostanze nutritive e l'aumento del contenuto della sostanza secca della pianta.

Negli allevamenti di vacche da latte che possiedono terreni con una scarsa vocazione alla produzione di mais è emersa l'esigenza di trovare una alternativa a questa coltura, in grado di fornire un prodotto con gli stessi valori nutrizionali. Una valida alternativa è il sorgo da granella classico (*Sorghum bicolor L.*) (Regione Lombardia, 2011).

La crescente popolarità dei sorghi da foraggio e da granella, per l'alimentazione di bovini da latte e da carne, può essere attribuita alle loro potenziali proprietà di insilamento e ai loro rendimenti competitivi della sostanza secca della pianta intera rispetto al mais.

Le ampie differenze in valori nutrizionali tra cultivar sono dovute alle caratteristiche fenotipiche delle cultivar di sorgo da foraggio, dall'ampia scelta della lunghezza della stagione, altezza delle piante, sostanza secca dell'intera pianta e rendimento della granella.

Le prestazioni agronomiche e le caratteristiche del valore nutritivo sono influenzate dallo stadio di maturazione e dalla raccolta (Bolsen, 2002).

Dallo studio di Oliver *et al.* (2004) e Dann *et al.* (2008) emerge che gli insilati di alcuni ibridi di sorgo (Brown Midrib sorghum) riescono a sostituire l'insilato di mais nella produzione di latte se le diete sono adeguatamente integrate con farine di mais.

L'insilato di sorgo da granella a pianta intera può sostituire parzialmente l'insilato di mais nella razione della vacca da latte senza alcun effetto sulla produzione di latte (Colombini *et al.*, 2012) ma può anche essere utilizzato nell'alimentazione di bovini da ingrasso (Do Prado *et al.*, 2012).

Secondo Adewakun *et al.* (1989), l'insilato di sorgo è adatto a sostituire l'insilato di mais anche per l'alimentazione dei vitelli in crescita.

La ricerca di Wester *et al.* (1992) riporta che esiste una variabilità nella digestione *in vitro* dell'amido degli ibridi di sorgo da granella disponibili in commercio e questa variabilità può influire sulle prestazioni degli animali.

Negli ultimi anni con l'aumento degli impianti di digestione anaerobica si è diffuso l'utilizzo di sorgo da biomassa. Questo tipo di coltura si inserisce facilmente nelle rotazioni aziendali dove il suolo deve essere mantenuto in buone condizioni agronomiche. Può essere coltivato in ambienti dove c'è bassa potenzialità produttiva e può essere utilizzato in secondo raccolto dopo un cereale autunno-vernino, ha una potenzialità produttiva elevata ed è quasi assente di parassiti. Le pareti cellulari devono essere costituite da abbondanti zuccheri semplici fermentescibili o da carboidrati complessi per definire l'attitudine alla co-digestione per la produzione di biogas. I sorghi zuccherini e da foraggio, caratterizzati da dimensioni elevate, ricaccio moderato, stelo robusto e midolloso, sono i più adatti per questo tipo di utilizzo (Regione Lombardia, 2011).

1.3 L'insilamento

Gli insilati di mais e di sorgo che possono essere inclusi nelle razioni per soddisfare per la maggior parte dei fabbisogni di accrescimento e di finissaggio, presentano il vantaggio di massimizzare la produzione di carne per ettaro rispetto alla raccolta e la conservazione di queste

colture in altri modi. La raccolta, lo stoccaggio e l'alimentazione in questo modo, possono inoltre essere completamente meccanizzabili (Guyer, 1978).

L'insilamento si basa sulle fermentazioni anaerobiche, in base alle quali i batteri lattici convertono i carboidrati solubili in acqua, in acidi organici principalmente acido lattico, con il conseguente risultato che il pH si abbassa rapidamente in situazione di anaerobiosi. La presenza dell'aria è una delle cause del deterioramento in quanto consente la respirazione e l'attività di microrganismi quali lieviti e muffe che portano ad una perdita di nutrienti di fermentazione. La stabilità anaerobica degli insilati è importante. Esposizioni aerobiche degli insilati possono generare calore che attraverso la reazione di Maillard porta ad un abbassamento della digeribilità della proteina grezza. L'insilato esposto all'aria, può essere soggetto alla formazione di muffe, le quali potrebbero produrre micotossine (Weinberg *et al.*, 2010).

Bisogna scegliere trinciati che hanno:

- un basso contenuto di NDF (frazione fibrosa) o un alto contenuto di frazione fibrosa purché si tratti di carboidrati degradabili
- un elevato contenuto di amido come fonte di energia per i ruminanti. Non ci sono fabbisogni minimi, ma c'è un limite massimo da rispettare nella razione perché quote eccessive di amido possono portare a disordini digestivi e acidosi. Il mais ne contiene 25-30% t.q. mentre per il sorgo le concentrazioni sono molto più variabili in base alla varietà;
- un discreto contenuto proteico è importante nella fase di accrescimento e di produzione del latte. Il mais ne contiene 2,5-3% t.q. mentre per il sorgo i dati sono variabili, ma di media si aggirano sul 2% t.q. (Regione Lombardia, 2011).

L'insilato di mais ceroso o silomais si è affermato nell'alimentazione dei bovini perché determina una riduzione dei costi alimentari per la produttività elevata e l'alto valore nutritivo (Avogaro *et al.*, 1983).

È il principale foraggio nelle razioni per vacche allevate nella Pianura Padana (esclusa l'area del Parmigiano Reggiano) grazie al suo alto rendimento in SS, elevata concentrazione di energia netta lattazione, alto apporto potenziale e un ottimo contenuto di SS al momento della raccolta (Colombini *et al.*, 2012).

Il silomais viene prodotto trinciando l'intera pianta del mais, raccolta alla maturazione cerosa della granella, viene poi compresso nel silo, all'interno del quale avvengono le fermentazioni anaerobiche che ne permettono la conservazione. È l'alimento che produce energia netta per i ruminanti al prezzo più contenuto. In condizioni ordinarie di coltura (agronomiche, climatiche e zootecniche) dovrebbe fornire circa 10.000-18.000 UFL/ha. La

composizione chimica varia molto in relazione al contenuto di SS della pianta al momento della raccolta; con il procedere della maturazione si verifica una riduzione del contenuto di sostanze proteiche e di fibra grezza, e un aumento di lipidi e estrattivi inazotati. La raccolta deve essere effettuata quando è massima la produzione di SS/ha cioè quando l'intera pianta contiene circa il 35% SS, ovvero dopo circa 5-6 settimane dall'epoca di fioritura (Avogaro *et al.*, 1983).

L'epoca di raccolta del sorgo da insilare dipende dall'ibrido che si utilizza. Gli ibridi a sfalcio, che sono di grande taglia, presentano una tecnica culturale che si avvicina a quella del mais e un alto livello di umidità all'inizio della spigatura; quest'ultima caratteristica costringe a posticipare la raccolta di qualche settimana con un peggioramento della qualità della fibra. Gli ibridi a più sfalci, che hanno una taglia molto inferiore, si possono appassire in campo e sfalciare ad inizio spigatura (stadio ottimale), hanno fibra poco lignificata ed un tenore di umidità elevato (<80%). È da preferire quindi il sorgo da foraggio multisfalco; il taglio avviene con falciaccondizionatrice e dopo alcuni giorni si raccoglie con una trincia semovente e si insila in trincea (Crovetto, 2007).

1.4 Tecniche per valutare la digeribilità degli alimenti e delle diete nei ruminanti

La digeribilità riguarda le diverse componenti dell'alimento e della dieta. È una misura percentuale di quanto un principio nutritivo ingerito dall'animale possa essere digerito e assorbito al netto delle feci.

I valori di digeribilità sono molto variabili poiché questo parametro dipende da fattori legati: i) all'animale (specie e categoria dell'animale e livello di ingestione); ii) all'alimento (composizione chimica, trattamenti); iii) alle caratteristiche della dieta (livello nutritivo, adattamento); iv) alle condizioni ambientali e alle modalità di distribuzione della dieta.

La digeribilità può essere stimata con metodi *in vivo*, *in situ* e *in vitro* (Antongiovanni, 2004).

1.4.1 Stima della digeribilità in vivo

La stima della digeribilità *in vivo* può essere effettuata con metodi diretti o indiretti. Le procedure dirette si basano sulla stima del bilancio *ingesta-escreta*. Gli animali vengono posti in gabbie individuali per consentire la misurazione di assunzione giornaliera della razione e la raccolta completa delle feci (Cattani, 2011).

La raccolta totale delle feci, è una procedura molto laboriosa e può arrecare disturbo all'animale e, quindi, influenzare l'ingestione degli alimenti (Verzichi e Marinucci, 2002).

Il protocollo consiste nel somministrare ad almeno 6 animali una quantità misurata di dieta, raccogliere le feci per almeno 5 giorni consecutivi, analizzare i campioni di alimenti e di feci e poi redigere il bilancio delle entrate e delle uscite di un certo nutriente della razione (energia, fibra grezza, proteina grezza,...). Gli animali nelle 2 settimane antecedenti la prova devono essere alimentati con la razione o l'alimento in esame (periodo di adattamento). Per convenzione questo tipo di prove vengono effettuate su animali adulti al mantenimento.

La digeribilità apparente (%) della frazione che si sta considerando è data da:

$$[(alimento - feci) \times 100] / alimento$$

dove alimento e feci sono valori medi della quantità di frazione alimentare considerata. È chiamata apparente perché si considerano nelle feci sia i residui indigeriti dei nutrienti alimentari che i residui delle secrezioni ghiandolari. Per avere una stima più precisa è necessario correggere l'equazione per l'apporto delle sostanze organiche endogene (s.o. end.):

$$[alimento - (feci - s.o. end.)] \times 100 / alimento$$

Quando la raccolta totale delle feci è difficoltosa si possono usare i marcatori o indicatori. Quest'ultimi sono sostanze non digeribili e misurabili analiticamente in modo semplice. Possono essere di origine endogena se presenti naturalmente nell'alimento e di origine esogena se introdotti con la dieta. In questo caso la digeribilità viene calcolata:

$$(indicatore / feci - indicatore / alimento) \times 100 / (indicatore / feci)$$

1.4.2 Stima della digeribilità in situ

Questa procedura richiede la disponibilità di animali vivi, preparati chirurgicamente (fistolati e canulati) e manodopera qualificata: si tratta di una tecnica costosa e soggetta ad errori. È stata molto criticata dall'opinione pubblica per la necessità di utilizzare animali fistolati e ha sollevato problemi di natura etica e morale sul benessere degli animali (Stern *et al.*, 1997).

Ørskov e McDonald (1979) hanno proposto la tecnica chiamata degradabilità in sacco. Tale procedura consiste nell'inserire dei sacchetti di nylon, fissati ad una asticella, riempiti di un campione di alimento macinato e di porli all'interno del rumine di un animale. I sacchetti sono costituiti da materiale poroso (circa 40 µm). Tale porosità permette ai microrganismi ruminali di entrare nel sacchetto e avviare l'attività degradativa. Singolarmente e a tempi variabili i sacchetti vengono estratti dal rumine e lavati, poi, il contenuto viene sottoposto ad analisi. Si passa poi alla valutazione della cinetica di degradabilità potenziale (p) che segue la funzione: $p = a + b(1 - e^{-ct})$ dove "p" è la frazione di unità del principio nutritivo scomparsa

al tempo “t”; “a” è la frazione di unità del principio nutritivo immediatamente solubile; “b” è la frazione degradabile a tempo infinito; “c” è la velocità di scomparsa del principio.

Questo metodo è piuttosto impreciso poiché i principi nutritivi scompaiono dal rumine non solo per l’effetto dell’attività di degradazione microbica ma anche per l’effetto dello svuotamento periodico del comparto rumino-reticolare. Quindi è necessario considerare oltre alla velocità di degradazione (c) anche la velocità di transito (k). La funzione relativa alla degradabilità effettiva (p) che si ottiene è quindi: $p = a + b [c / (c + k)]$.

1.4.3 La digeribilità *in vitro*

Le tecniche *in vitro* sono state proposte in alternativa alle tecniche *in vivo* e *in situ* perché presentano dei vantaggi: non comportano l’uso diretto degli animali, sono meno laboriose, più adatte alla valutazione degli alimenti per ruminanti e sono più standardizzate (Cattani, 2011).

Le tecniche per stimare la digeribilità *in vitro* possono essere classificate come:

- metodi per misurare direttamente la digeribilità degli alimenti. Consistono in una prima fase di incubazione del campione con liquido ruminale e una seconda fase di trattamento con pepsina e HCl (Tilley e Terry, 1963) o con una soluzione al detergente neutro (Goering e Van Soest, 1970). Czerkawski e Breckenridge (1977) hanno introdotto l’uso di saliva artificiale per mantenere i livelli di pH e riprodurre ciò che accade a livello ruminale. Negli ultimi anni la ricerca ha sviluppato dei metodi alternativi, come l’incubatore Daisy^{II} (ANKOM Technology). Quest’ultima applicazione permette di analizzare più di cento campioni suddivisi in sacchetti porosi, immersi nel liquido ruminale e soluzione tampone (ANKOM Technology, 2015);

- metodi per misurare il gas prodotto durante le fermentazioni ruminali e quindi stimare indirettamente la degradabilità. La *gas production* (GP) si è sviluppata per simulare in laboratorio la fermentazione degli alimenti che avviene all’interno del rumine ad opera della flora batterica. La procedura introdotta da Menke *et al.* (1979), prevedeva l’impiego di siringhe dove veniva incubato l’alimento con una miscela di substrato e inoculo microbico. La produzione di gas veniva misurata attraverso lo spostamento dello stantuffo della siringa. Questo metodo manuale inizialmente stimava la produzione di gas nelle 24 ore di incubazione.

Una tecnica innovativa, proposta da ANKOM Technology, si basa sull’uso di bottiglie dotate di tappi particolari in grado di rilevare la pressione del gas che si sviluppa all’interno. Questi dati sono inviati via wireless ad un PC e trasformati in produzione di gas. È quindi possibile costruire la cinetica di produzione di gas nel caso delle fermentazioni e stimare la degradabilità dell’alimento/dieta sulla base di opportune equazioni.

2. Obiettivi

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di valutare la degradabilità, la produzione di gas e il valore nutritivo di quattro ibridi di sorgo (Bulldozer, Freya, Favorite, Surgo) e uno di mais (Kolosseus), provenienti da due zone di coltivazione diversa: azienda Vallevicchia a Caorle (VE) e azienda Sasse Rami a Ceregnano (RO), dopo un periodo di insilamento in minisilo.

La stima della degradabilità e della produzione di gas sono state effettuate mediante l'impiego di due diverse tecniche *in vitro* basate sulla fermentazione ruminale degli alimenti in condizioni controllate (ANKOM Daisy^{II} Incubator e ANKOM^{RF} Gas Production System), considerando un tempo di incubazione di 48 h.

I valori ottenuti *in vitro* saranno utilizzati, con i dati di composizione chimica, per calcolare il valore energetico (energia metabolizzabile, energia netta e unità foraggiere latte) degli insilati, utilizzando delle equazioni presenti in bibliografia.

3. Materiale e metodi

3.1 *Insilati utilizzati*

Nella presente prova sono stati analizzati 4 ibridi di sorgo:

- Sorgo da foraggio “Bulldozer” (KWS Italia Spa, Monselice, Padova): è una varietà a ciclo vegetativo medio-tardivo, produce piante vigorose di taglia elevata con ottima tolleranza agli allettamenti e con eccellenti produzioni di sostanza secca e verde;
- Sorgo da foraggio “Freya” (KWS Italia Spa, Monselice, Padova): è una varietà a ciclo vegetativo precoce, produce piante rustiche con buona propensione all’accestimento;
- Sorgo da granella “Favorite” (Sivam Spa, Casalpusterlengo, Lodi): è una varietà a ciclo medio, capace di adattarsi a condizioni pedoclimatiche diverse, resiste alle patologie principali e alla siccità;
- Sorgo zuccherino “Surgo” (Sivam Spa, Casalpusterlengo, Lodi): è una varietà a ciclo medio-tardivo, adatta alla produzione di foraggio da destinare all’insilamento per l’alimentazione del bestiame,
e un ibrido di mais: “Kolosseus” (KWS Italia Spa, Monselice, Padova).

Gli ibridi sono stati coltivati in due diverse aziende pilota di Veneto Agricoltura: Vallevecchia a Caorle (VE) e Sasse Rami a Ceregnano (RO).

In entrambe le aziende gli ibridi di sorgo “Bulldozer” e “Surgo” sono stati seminati a fine maggio, mentre gli ibridi “Freya” e “Favorite” sono stati seminati a metà giugno. Il tasso di semina utilizzato per gli ibridi “Bulldozer” e “Freya” è stato di 19 piante/m², per l’ibrido “Favorite” 22 piante/m² mentre per l’ibrido “Surgo” 32 piante/m². Non sono stati distribuiti fertilizzanti; solo nella fase di post emergenza sono stati distribuiti 100 kg/ha di urea.

In entrambe le aziende l’ibrido di mais è stato seminato alla fine di aprile, con un tasso di semina pari a 7 piante/m². Dopo la semina, sono stati distribuiti 100 kg/ha di urea e 300 kg/ha di fosfato d’ammonio.

Sia per gli ibridi di sorgo che per l’ibrido di mais, in post-emergenza sono stati distribuiti degli erbicidi.

L’irrigazione è stata effettuata solo nell’azienda situata in provincia di Rovigo, perché l’azienda di Venezia non è dotata di un sistema di irrigazione. Gli ibridi di sorgo sono stati irrigati solo il 2 luglio mentre all’ibrido di mais sono state effettuate tre irrigazioni: 2 e 22 luglio e il 12 agosto.

Gli ibridi di sorgo sono stati raccolti il 18 settembre 2013 dall'azienda in provincia di Venezia e il 12 settembre 2013 dall'azienda di Rovigo. Dopo la raccolta, sono stati prelevati dei campioni di insilato di mais e dei campioni degli insilati di sorgo (10 kg ciascuno), poi sono stati compattati meccanicamente in minisilo esercitando una pressione di 1,2 atmosfere/cm² con una pressa per simulare il calpestio di una pala gommata. I minisilo sono contenitori in plastica con una capienza di 20 litri (Figura 3).

Figura 3. Minisilo messo a punto da Veneto Agricoltura



In ogni azienda sono stati insilati due campioni per ogni ibrido di sorgo e di mais. I minisilo, poi, sono stati ermeticamente coperti, assicurando che tutta l'aria fosse eliminata e conservati per 60 giorni, in assenza di luce e a temperatura ambiente (24 ± 3 °C). Dopo aver aperto i minisilo, lo strato superiore degli insilati (circa 10-15 cm) è stato scartato per eliminare il rischio di fermentazioni anomale o non desiderate. Due aliquote di insilato, di circa 1,5 kg ciascuna, sono state prelevate da ciascun minisilo, inserite in sacchetti di nylon (Figura 4), etichettati e inviati ai laboratori per le analisi.

Figura 4. Campione di insilato da analizzare, ottenuto dalla porzione centrale del minisilo



I campioni una volta arrivati nel Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione (BCA) dell'Università di Padova (campus Agripolis), sono stati conservati in cella freezer a -20 °C fino al momento dell'analisi. I campioni sono stati successivamente sottoposti a pre-essiccazione in stufa a 60 °C per 48 ore, successivamente macinati con un mulino a martelli dotato di una griglia con fori del diametro di 1 mm. L'analisi chimica degli insilati è stata effettuata presso il laboratorio LA.CHI del dipartimento DAFNAE. Essa ha incluso la determinazione della sostanza secca (SS; # 934.01; AOAC, 2003), delle proteina grezza pura (PG; # 976.05; AOAC, 2003), dell'estratto etereo (EE; # 920.29; AOAC, 2003) e delle ceneri (# 942.05; AOAC, 2003) e dell'amido (Bouchard *et al.*, 1988). La frazione aNDF, comprendente i residui di ceneri insolubili, è stata determinata con l' α -amilasi e solfito di sodio, impiegando l'ANKOM²²⁰ Fibre Analyzer (ANKOM Technology[®], NY, USA), come consigliato da Mertens (2002).

3.2 Tecniche per la stima della digeribilità *in vitro*

La stima della digeribilità *in vitro* ha previsto l'uso di liquido ruminale, che è stato prelevato da animali donatori. La preparazione dei campioni da analizzare e delle soluzioni è stata effettuata nei giorni antecedenti l'incubazione.

La strumentazione utilizzata per stimare la digeribilità è: l'ANKOM Daisy^{II} Incubator e l'ANKOM^{RF} Gas Production System.

3.2.1 *Prelievo liquido ruminale*

Il liquido ruminale è stato prelevato il giorno dell'incubazione da 3 bovine di razza Frisona, stabulate nell'Azienda Sperimentale "L. Toniolo" dell'Università di Padova. Le bovine erano in asciutta ed erano a digiuno dalla sera antecedente l'incubazione.

Le vacche erano alimentate con fieno di prato stabile, somministrato *ad libitum*, e 2,5 kg di concentrati al giorno (0,5 kg di polpe essiccate di bietola, 1 kg di farina di mais ed 1 kg di farina di estrazione di girasole).

Il prelievo è stato effettuato tramite sonda esofagea munita di filtro nella parte terminale che impedisce l'aspirazione di materiale grossolano. La sonda, collegata ad una pompa del vuoto tramite una sonda flessibile, ha consentito di arrivare al rumine e prelevare il liquido. Questo è stato raccolto in un matraccio, coperto da 3 strati di tessuto per la filtrazione e posto immediatamente all'interno di piccoli termos per mantenere la temperatura. Il liquido filtrato è stato portato immediatamente nel laboratorio del Dipartimento. Tutta l'operazione, dall'inizio del prelievo all'arrivo in laboratorio, è durata meno di 30 minuti. Una volta arrivati in laboratorio il liquido ruminale è stato rinfiltrato, posto in un bagnetto a bagnomaria a 39 °C utilizzando il flusso di CO₂.

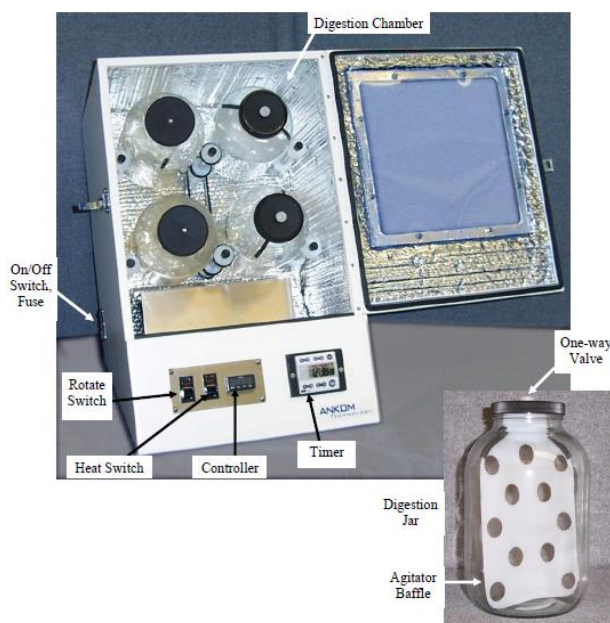
3.2.2 *ANKOM Daisy^{II} Incubator*

L'incubatore è prodotto da un'azienda americana (ANKOM Technology, New York, USA) ed è riportato in molte pubblicazioni sulla digeribilità *in vitro* degli alimenti.

Lo strumento rappresentato in Figura 5 si compone di:

- Camera di digestione: isolata termicamente in grado di mantenere una temperatura di 39,5 °C;
- Quattro giare: collocate all'interno della camera di digestione, sono "vasi" in vetro con una capacità di 3 litri, muniti di tappo di materiale plastico. Ogni giara è posta su supporti che consentono la rotazione automatica. All'interno di ogni vaso è presente un supporto plastico che permette il miscelamento del liquido che deve andare a contatto con i filter bags;
- Filter bags (tipo F57) o sacchetti porosi: sono costituiti da materiale chimico inerte e filtrante, resistente al calore, in grado di trattenere le particelle di diametro fino a 25 µm pur permettendo la rapida penetrazione della soluzione. All'interno dei sacchetti vengono posti i campioni da analizzare e poi chiusi attraverso una termosaldatura. Ognuno viene identificato attraverso dei marcatori resistenti ai solventi (ANKOM Technology, 2015).

Figura 5. ANKOM Daisy^{II} Incubator (www.ankom.com)



L'incubatore DAISY^{II}, utilizzando quattro vasi di digestione, può analizzare fino a 100 campioni, individualmente racchiusi in sacchetti porosi. Riesce a mantenere adeguate condizioni anaerobiche. Può essere utilizzato per studi di digeribilità che utilizzano sia enzimi che inoculo ruminale.

Il giorno antecedente l'incubazione lo strumento, con all'interno le quattro giare, è stato acceso per portare la camera di fermentazione a 39 °C. I filter bags precedentemente lavati con acetone per rimuovere il film protettivo (surfactante) presente, che avrebbe potuto interferire con la digestione *in vitro*, e asciugati in stufa per una notte, sono stati numerati e pesati (tara). In ognuno sono stati posti 0,25 g di alimento con un intervallo accettabile compreso tra 0,2490 e 0,2510 g. I filter bags poi sono stati posti nelle quattro giare secondo uno schema predefinito. Il giorno dell'incubazione ogni giara è stata riempita con 0,8 l di liquido ruminale e 1,6 l di tampone (Menke *et al.*, 1988) preparato come dimostrato nella Tabella 4.

Per questo strumento è stato adottato il seguente disegno sperimentale: 5 varietà (4 di sorgo + 1 di mais) x 2 siti di raccolta x 2 replicazioni. Sono stati incubati 12 bianchi (filter bags senza campione da analizzare), per un totale di 32 filter bags incubati (8 sacchettiini porosi/giara).

La prova ha previsto due incubazioni, condotte in due settimane successive, nelle quali è stato utilizzato il medesimo disegno sperimentale. Al termine delle 48 ore di incubazione i filter bags, contenenti il residuo di fermentazione non degradato, sono stati trattati per un'ora a 100 °C con detergente neutro al fine di determinare la degradabilità della frazione fibrosa

(NDF), usando la strumentazione ANKOM²²⁰ Fiber Analyzer (ANKOM Technology, New York, USA).

3.2.3 ANKOM^{RF} Gas Production System

Questo strumento è prodotto anch'esso da ANKOM Technology, permette di misurare sia la degradabilità, sia la produzione di gas.

L'apparecchiatura di Figura 6 si compone di:

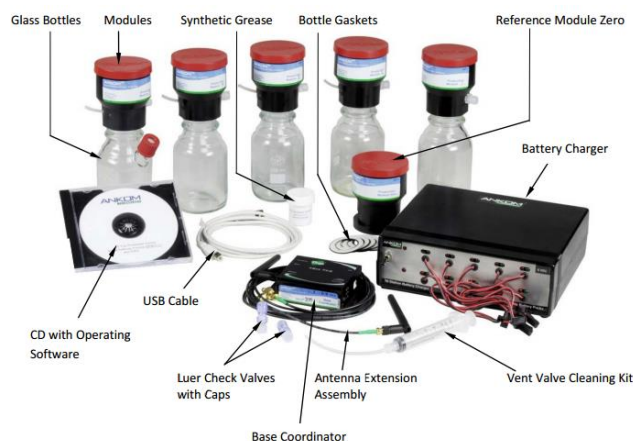
- Giare: bottiglie di vetro, dove viene posto il campione da analizzare con il liquido di fermentazione. Ogni giara è chiusa con un tappo apposito, un modulo attivo, che trasmette i dati al sistema. Ogni bottiglia ha un volume di 310 ml;

- Modulo attivo: è formato da un cilindro di plastica, alla base è chiuso e presenta una filettatura per essere avvitato alla bottiglia. All'interno si trovano: il sensore di pressione, una scheda elettronica e una batteria ricaricabile che permette il collegamento con l'antenna wireless e la valvola. Il modulo presenta tre fori: un'apertura che comunica con il sensore di pressione, una seconda apertura connessa con l'elettrovalvola di sfiato che è controllata dal software, una terza apertura che permette l'attacco con il condotto della CO₂.

Per un corretto funzionamento del sistema, durante l'incubazione, viene posto il "modulo zero" esternamente all'apparecchiatura. Questo modulo che non viene collegato con nessuna giara ha la funzione di registrare la pressione atmosferica;

- Sistema di trasmissione e registrazione dei dati: è controllato da una centralina wireless chiamata "*base coordinator*" e da un software, sempre fornito dalla ANKOM, caricato in un computer. Il programma consente di gestire il funzionamento delle apparecchiature, impostare la pressione di apertura delle valvole, definire ogni quanto registrare i dati, controllare il voltaggio delle batterie e vedere gli eventuali malfunzionamenti dei moduli. Le registrazioni vengono riportate in fogli Excel per poi generare le curve di produzione dei gas (ANKOM Technology, 2015).

Figura 6. ANKOM^{RF} Gas Production System (www.ankom.com)



Prima dell'incubazione i campioni sono stati macinati tramite mulino munito di griglia con fori di 1 mm; poi è stata pesata una quantità di substrato pari a 0,5 g con un intervallo accettabile compreso tra 0,4990 e 0,5010 g inserita nelle bottiglie. Le bottiglie sono state sigillate con gli appositi tappi o moduli. Anche i moduli sono stati preparati, verificando il funzionamento delle valvole (apertura, chiusura e tenuta - con la valvola chiusa sono stati iniettati con siringa da 50 ml, opportunamente munita di raccordo di plastica, una quantità nota di aria, verificando che l'operazione non sia realizzabile). Per l'incubazione ogni bottiglia è stata riempita con 0,5 g di campione, 25 ml di liquido ruminale e 50 ml di tampone (Menke *et al.*, 1988) preparato come riportato nella Tabella 4. Il disegno sperimentale seguito per questa strumentazione è stato: 5 varietà (4 di sorgo + 1 di mais) x 2 siti di raccolta x 2 replicazioni. In aggiunta sono stati incubati 3 bianchi (bottiglie senza campione da analizzare, contenenti solo liquido ruminale e tampone), per un totale di 23 bottiglie incubate.

La prova ha previsto due incubazioni, condotte in simultanea con il Daisy^{II}, nelle quali è stato utilizzato il medesimo disegno sperimentale. Al momento dell'incubazione, con un lavoro coordinato di più persone è stata seguita questa procedura: 1) apertura dell'incubatore, 2) estrazione di una bottiglia e 3) chiusura dell'incubatore. Questa operazione doveva essere fatta in maniera molto rapida per evitare l'abbassamento di temperatura all'interno dell'incubatore. La quarta operazione prevedeva la rimozione del "modulo attivo" dalla bottiglia ed il collegamento della batteria, verificando sul computer la connessione e il voltaggio. Successivamente, il liquido di fermentazione (miscela di liquido ruminale e tampone) veniva dosato all'interno della bottiglia, creando un ambiente anaerobico attraverso l'insufflazione di CO₂. La bottiglia veniva quindi richiusa con l'apposito modulo ed inserita nuovamente all'interno dell'incubatore. Questo passaggio è stato eseguito in maniera molto

delicata per evitare che le parti del campione che galleggiavano, sporcassero le pareti della bottiglia. Tale procedura è stata ripetuta per tutte le bottiglie oggetto di analisi.

Alla fine delle 48 ore di incubazione, ogni bottiglia è stata estratta dall'incubatore, privata del "modulo attivo", richiusa con un tappo apposito e poi posta in cella frigorifera a -20 °C per bloccare le fermentazioni.

Il residuo di fermentazione non degradato è stato analizzato mediante Fibertech Analyzer (Velp Scientifica). Il materiale rimasto è stato filtrato con crogioli porosi (40-100 µm di porosità) in modo tale da separare la frazione liquida da quella solida costituita dalle parti indegradate. Il materiale è poi stato sottoposto ad un trattamento con soluzione NDF.

In questo lavoro di tesi, per ogni procedura di incubazione è stata eseguita l'Analisi NDF secondo Van Soest *et al.* (1991).

La procedura per la determinazione delle frazioni fibrose è stata ideata e perfezionata da Van Soest *et al.* (1991) per determinare il contenuto di carboidrati strutturali dei mangimi. Prevede un trattamento a pH neutro per solubilizzare il contenuto cellulare, e lasciare nel residuo i costituenti delle pareti cellulari, costituiti da emicellulose, cellulosa, lignina e ceneri insolubili. Si procede poi con l'uso di una soluzione acida per solubilizzare le emicellulose. Il residuo che si ottiene, ADF (fibra resistente al detergente acido), viene trattato con una soluzione fortemente acida che solubilizza la cellulosa e lascia nel residuo lignina (ADL, lignina resistente al detergente acido).

La soluzione neutra utilizzata nel primo step è composta principalmente da sodio lauril solfato ed EDTA, con un pH vicino a 7.0, che permette di allontanare le frazioni solubili presenti nella cellula vegetale conservando le frazioni insolubili della parete vegetale. La parete vegetale può però contenere composti di natura non fibrosa come l'amido, quindi per ovviare a questo problema si utilizza l'alfa amilasi.

Tabella 4. Soluzione Menke *et al.* (1988)

Soluzione	Elementi	Quantità
Tampone		
	Sodio bicarbonato (NaHCO ₃)	35,0 g
	Ammonio bicarbonato (NH ₄ HCO ₃)	4,0 g
	Acqua distillata (H ₂ O)	1000 ml
Macrominerale		
	Sodio fosfato bibasico (Na ₂ HPO ₄)	5,7 g
	Potassio fosfato monobasico (KH ₂ PO ₄)	6,2 g
	Magnesio solfato eptaidrato (MgSO ₄ -7H ₂ O)	0,6 g
	Acqua distillata (H ₂ O)	1000 ml
Microminerale		
	Calcio cloruro diidrato (CaCl ₂ -2H ₂ O)	13,2 g
	Magnesio cloruro tetra idrato (MnCl ₂ -4H ₂ O)	10,0 g
	Cobalto cloruro esaidrato (CoCl ₂ -6H ₂ O)	1,0 g
	Ferro cloruro esaidrato (FeCl ₃ -6H ₂ O)	1,17 g
	Acqua distillata (H ₂ O)	100 ml
Resazurina		
	Resazurina (polvere blu)	0,1 g
	Acqua distillata (H ₂ O)	100 ml
Riducente		
	Sodio idrossido (NaOH 1N)	2 ml
	Sodio solfuro nona idrato (Na ₂ S*9H ₂ O)	0,336 g
	Acqua distillata (H ₂ O)	100 ml

Le soluzioni vengono unite solo poco tempo prima dell'incubazione, nel momento in cui viene aggiunto l'ultimo elemento, cioè la soluzione riducente, si osserva il viraggio. Durante la preparazione della soluzione tampone, la miscela viene posta al flusso di CO₂ e tenuta in agitazione.

3.3 Procedure di calcolo

I valori di pressione (PSI) forniti da ogni bottiglia durante ciascuna incubazione sono stati convertiti in volume ed espressi in ml di gas prodotto per g di sostanza secca incubata utilizzando l'equazione proposta da Lopez *et al.* (2007). Tale equazione considera: i) la pressione atmosferica; ii) la pressione presente all'interno delle giare; iii) lo spazio di testa delle giare (il volume disponibile per l'accumulazione del gas prodotto). In questo lavoro lo spazio di testa, corrispondeva a 235 ml (310 ml di volume totale della giara meno i 75 ml di liquido di fermentazione).

I valori di degradabilità della fibra (NDFd) e della sostanza secca (TDMd) sono stati calcolati seguendo le equazioni standard proposte da Goering e Van Soest (1970).

I valori di energia metabolizzabile (EM) contenuti negli insilati di sorgo e di mais sono stati conteggiati utilizzando alcuni dati di composizione chimica e i dati relativi alla degradabilità della fibra (NDFd) misurati a 48 h di incubazione (NRC, 2001; EM_{NRC}) o

utilizzando la produzione di gas (GP) misurata a 24 h di incubazione (Menke e Steingass, 1988; EM_{Menke}).

L'energia netta di lattazione (EN_L) contenuta negli insilati è stata stimata utilizzando la produzione di gas a 24 ore, la proteina grezza (PG) e l'estratto etereo (EE) (Menke e Steingass, 1988).

Le equazioni utilizzate per calcolare l'EM, l' EN_L e le UFL sono riportate di seguito:

$$- EM_{NRC} \text{ (MJ/kg SS)} = - 0,45 \times 4,184 + 1,01 \times ED$$

L'energia digeribile (ED, MJ/kg SS) è stata calcolata con la seguente equazione:

$$- ED = [(NDFd/1000) \times 4,2 + (tdNSC/1000) \times 4,2 + (tdPG/1000) \times 5,6 + ((tdEE/1000) \times 9,5) - 0,3] \times 4,184$$

$$- EM_{Menke} \text{ (MJ/kg SS)} = 2,20 + 0,1357 \times GP24 + 0,0057 \times PG + 0,0002859 \times EE^2$$

$$- EN_L \text{ (MJ/kg SS)} = 0,54 + 0,0959 \times GP24 + 0,0038 \times PG + 0,0001733 \times EE^2$$

$$- UFL \text{ (n/kg SS)} = EN_L/7,113$$

dove: NDFd = NDF degradata a 48 h, misurata con Daisy o RF, espressa in g/kg SS

tdNSC = carboidrati non strutturali totalmente digeribili, espressi in g/kg SS
(NRC, 2001)

tdPG = proteina grezza totalmente digeribile, espressa in g/kg SS (NRC, 2001)

tdEE = estratto etereo totalmente digeribile, espresso in g/kg SS (NRC, 2001)

GP24 = produzione di gas, espressa in ml/0,2g SS in 24 ore

PG = proteine grezze, espresse in g/kg SS

EE = estratto etereo, espresso in g/kg SS

3.4 Analisi statistica

I dati di composizione chimica, di energia, di degradabilità e produzione di gas *in vitro*, sono stati sottoposti ad analisi della varianza utilizzando il pacchetto SAS (SAS, 2007). Il modello utilizzato è stato un modello fattoriale che considerava l'effetto dell'azienda (A; n=1,2), dell'ibrido (I; n=1...5) e dell'interazione A×I.

4. Risultati e Discussione

4.1 Composizione chimica degli insilati

I dati relativi alla composizione chimica degli insilati di sorgo e di mais coltivati nelle aziende di Venezia e Rovigo sono riportati nella Tabella 5.

Tabella 5. Composizione chimica dell'insilato di sorgo e dell'insilato di mais prodotti nell'azienda di Venezia e nell'azienda di Rovigo (tutti i valori analitici sono espressi in % sulla SS, tranne la SS, espressa in %)

	SS	Lipidi	PG	NDF	ADF	ADL	Ceneri	Amido
Azienda 1-VE								
Bulldozer	22,3	2,0	8,2	70,1	41,9	4,6	6,9	5,8
Freya	30,1	2,3	9,0	60,1	32,0	4,2	6,9	8,4
Surgo	22,8	2,0	9,4	61,1	34,7	3,7	7,6	4,4
Favorite	31,3	3,3	10,2	48,6	27,4	2,9	7,5	15,8
Kolosseus	27,7	1,9	6,6	44,1	23,3	1,4	5,5	22,4
Azienda 2-RO								
Bulldozer	26,7	2,1	8,2	67,1	41,9	5,0	6,4	7,4
Freya	30,0	1,7	9,9	69,1	41,9	6,0	6,1	4,7
Surgo	26,6	2,4	8,6	57,2	32,8	4,4	6,4	13,2
Favorite	33,6	1,6	7,8	54,9	30,3	3,9	6,5	20,0
Kolosseus	33,9	2,6	8,6	39,3	22,0	2,1	3,6	31,0
SEM	0,47	0,12	0,20	0,79	0,49	0,14	0,14	0,70
P values								
Azienda (A)	<0,001	<0,01	N.S.	N.S.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ibrido (I)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A×I	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

SS: Sostanza Secca; PG: Proteina Grezza; NDF: Neutral Detergent Fibre, fibra resistente al detergente neutro; ADF: Acid Detergent Fibre, fibra residua al detergente acido; ADL: Acid Detergent Lignin, lignina acido detersa; SEM: Standar Error of the Means, errore standard medio; A x I: interazione tra azienda e ibrido; N.S.: $P > 0,10$.

Dall'analisi della Tabella 5 emerge che la tipologia di ibrido e l'interazione, A x I, hanno avuto un'influenza significativa ($P < 0,001$) per tutti i parametri considerati.

I dati riguardanti il contenuto di sostanza secca (SS) degli insilati sono più elevati nell'azienda di Rovigo (30,2%) rispetto all'azienda di Venezia (26,8%). Relativamente ai diversi ibridi, il "Favorite" è risultato quello con il maggior contenuto di SS (32,5%) rispetto sia agli altri tre ibridi di sorgo (26,4%) che a quello di mais (30,8%). Questa differenza può essere dovuta ad una irrigazione effettuata nelle colture presenti nell'azienda di Rovigo, che può aver favorito un maggiore accumulo di nutrienti nelle piante (Carmi *et al.*, 2006). Le differenze di SS si notano maggiormente tra gli ibridi di mais coltivati nelle due diverse aziende con una differenza di circa 6 punti percentuali (interazione A x I: $P < 0,001$). Tale

differenza è così evidente per il mais (rispetto al sorgo) poiché questa coltura ha bisogno di un'adeguata irrigazione per poter fornire una elevata risposta produttiva, mentre il sorgo tollera maggiormente la carenza d'acqua (Gardner *et al.*, 1994).

Il contenuto proteico non è stato influenzato significativamente dall'effetto dell'azienda ($P>0,10$) con valori medi pari a 8,66% sulla SS. L'ibrido con il valore più alto è risultato il "Freya" con un contenuto pari a 9,5% sulla SS ($P<0,001$). Anche l'interazione A x I è risultata significativa ($P<0,001$) con valori crescenti o decrescenti a seconda dell'ibrido passando da Venezia a Rovigo.

Il contenuto di lipidi, è stato influenzato sia dall'azienda ($P<0,01$) che dall'ibrido ($P<0,001$) che dall'interazione A x I ($P<0,001$). Tuttavia i valori sono risultati molto bassi (in media 2,2% sulla SS) variando da un minimo di 1,6% sulla SS dell'ibrido "Favorite" nell'azienda di Rovigo ad un massimo di 3,3% sulla SS dello stesso ibrido coltivato nell'altra azienda.

I valori di NDF (Neutral Detergent Fibre, fibra resistente al detergente neutro) sono risultati simili per le due aziende, circa 57% sulla SS ($P>0,10$). Relativamente agli ibridi di sorgo, il "Favorite", tipologia da granella, come atteso ha presentato il più basso contenuto di NDF (51,8% sulla SS), mentre "Bulldozer" e "Freya", tipologia da foraggio, hanno evidenziato contenuti di NDF maggiori, rispettivamente 68,6% sulla SS e 64,6% sulla SS ($P<0,001$). L'insilato di mais, ha mostrato un contenuto di NDF inferiore agli ibridi di sorgo in entrambe le due aziende ($P<0,001$). Questo dato concorda con i risultati di Calabrò *et al.* (2007) che riportano valori di NDF maggiori negli insilati di sorgo (63,0% sulla SS) rispetto all'insilato di mais (53,1% sulla SS).

Per quanto riguarda i livelli di ADF (Acid Detergent Fibre, fibra residua al detergente acido) e ADL (Acid Detergent Lignin, lignina acido detersa) dei vari ibridi, si evidenzia che l'azienda, la tipologia di ibrido e anche l'interazione tra l'azienda e l'ibrido sono risultati significativi ($P<0,001$). Si nota inoltre che l'ibrido di mais, come atteso, ha presentato livelli di fibra e di lignina inferiori ai quattro ibridi di sorgo sottoposti all'analisi.

Il livello di amido solitamente ha un andamento opposto al contenuto di NDF; quello di mais ha riportato un valore di amido pari al 22,4% sulla SS nell'azienda di Venezia e 31,0% sulla SS nell'altra azienda (RO). Negli insilati di sorgo, l'ibrido "Favorite" ha ottenuto valori maggiori essendo una tipologia da granella (azienda 1: 15,8% sulla SS, azienda 2: 20,0% sulla SS); le tipologie da foraggio: "Bulldozer" e "Freya" hanno invece riportato valori inferiori del 10%, in entrambe le aziende. Confrontando i dati di questo lavoro con quelli di Crovetto

(2005) risulta che l'insilato di mais ha un contenuto di amido inferiore (26,7 vs. 32,2% sulla SS) mentre il sorgo da granella e il sorgo da foraggio hanno raggiunto concentrazioni maggiori (17,9 vs. 13,7% sulla SS e 6,6 vs. 1,5% sulla SS, rispettivamente).

Gli insilati di sorgo delle varietà "Bulldozer", "Freya" e "Surgo", sono stati valutati anche da Dal Prà *et al.* (2014). In questo ultimo lavoro la SS, l'NDF e l'ADF sono risultati inferiori per tutti e tre i tipi di sorgo rispetto a quelli osservati in questa prova. L'ADL è risultata molto simile. I valori di amido per gli ibridi "Bulldozer" e "Surgo" sono risultati più bassi nel lavoro di Dal Prà, mentre per l'ibrido "Freya" si sono rilevati superiori se confrontati con quelli ottenuti in questa prova.

4.2 Livelli di pH, profilo acidico e N-NH₃/N degli insilati in prova

Nella Tabella 6, sono riportati i valori di pH, il profilo acidico e il rapporto N-NH₃/N degli insilati.

Tabella 6. Valori di pH, profilo acidico e rapporto tra azoto ammoniacale e azoto totale degli insilati sottoposti ad analisi. Acidi totali (g/kg t.q.), acido acetico (% sul totale degli acidi di fermentazione), acido lattico (% sul totale degli acidi di fermentazione), N-NH₃/N (rapporto tra azoto ammoniacale e azoto dell'insilato)

	pH	Acidi totali	Acetico	Lattico	N-NH ₃ /N
Azienda 1-VE					
Bulldozer	3,97	12,6	24,8	75,1	3,97
Freya	3,89	14,4	18,8	81,2	4,74
Surgo	3,88	15,6	20,4	79,5	5,35
Favorite	3,94	18,2	17,5	82,4	6,54
Kolosseus	3,69	21,0	11,1	88,8	6,30
Azienda 2-RO					
Bulldozer	3,73	14,7	13,5	86,3	3,46
Freya	3,73	16,0	13,1	86,5	2,76
Surgo	3,61	17,9	14,1	85,6	2,97
Favorite	3,81	17,3	15,6	84,0	3,64
Kolosseus	3,67	17,7	13,0	86,9	4,86
SEM	0,017	0,96	1,92	1,94	0,319
P values					
Azienda (A)	<0,001	N.S.	<0,01	<0,05	<0,001
Ibrido (I)	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,001
A×I	<0,001	<0,10	<0,05	<0,10	<0,01

SEM: Standar Error of the Means, errore standard medio; A x I: interazione tra azienda e ibrido; N.S.: P>0,10.

I dati riguardanti i livelli di pH, come si vede nella Tabella sovrastante, sono stati influenzati significativamente sia dall'azienda, sia dall'ibrido e anche dall'interazione tra

l'azienda e l'ibrido ($P < 0,001$). Questi valori risultano maggiori per gli ibridi coltivati nell'azienda di Venezia rispetto a quelli coltivati a Rovigo (3,9 vs. 3,7). Relativamente agli ibridi di sorgo il livello massimo è stato raggiunto dall'ibrido "Bulldozer" coltivato nell'azienda di Venezia (3,97) mentre il livello minimo è stato raggiunto dall'ibrido "Surgo" coltivato nell'azienda di Rovigo (3,61). Passando dall'azienda di Venezia all'azienda di Rovigo si nota un calo del pH dei diversi ibridi. Le differenze di pH, tra le due aziende, si evidenziano maggiormente per l'ibrido "Surgo" mentre le differenze minori si notano per l'ibrido di mais. I livelli di pH degli insilati di sorgo di questo lavoro sono compresi tra i limiti 3,6-4,2 rilevati da de Matos Teixeira *et al.* (2014) e sono anche inclusi nell'intervallo di 3,48-4,50 che indica che le fermentazioni hanno seguito un andamento corretto durante l'insilamento del sorgo, come suggerito da Gallardo e Gagiotti (2004). Condizioni di pH che si aggirano tra 3 e 4 sono da ritenersi comunque favorevoli perché inibiscono lo sviluppo dei microrganismo dannosi per l'insilato; tale abbassamento è dovuto al potere acidificante dell'acido lattico (Bittante *et al.*, 1990).

Il valore degli acidi totali, non è stato influenzato significativamente dall'azienda ($P > 0,1$). Tale parametro però ha risentito dell'effetto dell'ibrido e dell'interazione A x I ($P < 0,001$). Valori superiori si riscontrano nell'insilato di mais rispetto agli insilati di sorgo (19,4 vs. 15,8 g/kg t.q.). Passando dall'azienda di Venezia all'azienda di Rovigo i valori degli acidi totali aumentano per tutti gli ibridi.

L'acido lattico, prodotto in quantità più elevata rispetto all'acido acetico (83,6 vs. 16,2% del totale), dimostra che le fermentazioni all'interno dei minisilo hanno seguito un corretto andamento (Jones *et al.*, 2004).

La qualità eccellente degli insilati è anche dimostrata dal rapporto tra azoto ammoniacale e azoto degli insilati. Il rapporto N-NH₃/N degli insilati è stato influenzato dall'azienda ($P < 0,001$), dall'ibrido ($P < 0,001$) e dall'interazione A x I ($P < 0,01$). I dati ottenuti risultano compresi tra 2,76 e 6,54 g di NH₃/100g di N totale. Si trovano al di sotto dei 7 g di NH₃/100 g di N, limite stabilito da Ojeda *et al.* (1991) per definire un buon insilato. Questi valori, compresi nell'intervallo che va da 0 a 10 g di NH₃/100g di N totale, anche secondo Bittante *et al.* (1990) indicano una conservazione delle proteine del foraggio insilato ottima o buona.

La produzione di acido propionico era presente solo in piccola parte mentre la produzione di acido butirrico è risultata praticamente assente; per questi motivi tali valori non sono stati considerati e non sono stati riportati nella Tabella sovrastante. Essendo quasi

assente la presenza di acido butirrico e ammoniacca, indici dell'attività clostridica e della degradazione delle proteine, all'interno di questi insilati, si può affermare che l'acidificazione dell'insilato è avvenuta correttamente (Bittante *et al.*, 1990).

4.3 Degradabilità, produzione di gas e valori energetici in vitro

4.3.1 ANKOM^{RF} Gas Production System

Nella Tabella 7 vengono riportati i dati relativi alla degradabilità e alla produzione di gas ottenuti con le incubazioni effettuate con lo strumento ANKOM^{RF} Gas Production System.

Tabella 7. Valori di degradabilità e di produzione di gas ottenuti con lo strumento ANKOM^{RF} Gas Production System. Degradabilità NDFd e TDMd (%) e GP a 24h e 48h (ml/g SS)

	Degradabilità		GP	
	NDFd	TDMd	24h	48h
Azienda 1-VE				
Bulldozer	57,6	69,7	187,5	250,6
Freya	45,3	65,8	185,4	236,6
Surgo	47,0	67,0	181,0	236,0
Favorite	45,5	73,1	214,1	260,8
Kolosseus	63,0	83,5	239,4	311,0
Azienda 2-RO				
Bulldozer	56,0	68,3	178,2	238,8
Freya	40,4	59,1	156,0	215,0
Surgo	51,6	72,3	219,2	278,2
Favorite	53,2	74,2	215,8	273,5
Kolosseus	57,3	82,5	294,0	343,2
SEM	2,93	1,85	12,0	12,66
Incubazione				
1	50,2	70,7	203,0	259,0
2	53,2	72,5	212,0	269,7
SEM	1,33	0,82	6,00	5,68
P values				
Azienda(A)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Ibrido(I)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A×I	N.S.	<0,05	<0,05	<0,10
Incubazione	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

NDFd: degradabilità della fibra resistente al detergente neutro; TDMd: degradabilità vera della sostanza secca; GP: Gas Production, produzione di gas; EM: Energia Metabolizzabile; SEM: Standar Error of the Means, errore standard medio; A x I: interazione tra azienda e ibrido; N.S.: P>0,10.

Da un'analisi generale della Tabella 7 si può notare che la SEM (Standar Error of the Means, errore standard delle medie) risulta piuttosto elevata, che l'azienda non ha esercitato

un effetto significativo e nemmeno l'incubazione ($P>0,10$), mentre la tipologia di ibrido ha avuto un effetto significativo ($P<0,001$) per tutti i parametri analizzati.

I valori di NDFd (degradabilità dell'NDF) non sono stati influenzati dall'interazione tra ibrido e azienda ($P>0,10$). Si è ottenuto un dato medio pari a 51,7%. Relativamente ai diversi ibridi di sorgo il "Bulldozer" ha riportato valori di NDFd maggiori (56,8%) mentre per il "Freya" sono stati osservati valori inferiori (42,8%) rispetto agli altri ibridi di sorgo. Per quanto riguarda l'ibrido di mais "Kolosseus" ha riportato valori superiori a tutti e quattro gli ibridi di sorgo (60,17 vs. 49,5%), molto probabilmente per il minor grado di lignificazione della fibra. Di Marco *et al.* (2009) hanno trovato che l'NDFd *in vitro* era pari a 48,2% per il sorgo da foraggio, 49,2% per il sorgo da granella e 63,8% per il sorgo zuccherino.

L'alto valore nutritivo dell'insilato di mais rispetto all'insilato di sorgo è imputabile al contenuto di amido; per questo la degradabilità dell'NDF risulta più alta. Non essendo stata osservata una grande variabilità per i valori di NDFd degli ibridi tradizionali, si può ritenere che le tecniche agronomiche e l'ambiente sono fattori determinanti nell'influenzare tale parametro (Crovetto, 2005).

La TDMD, degradabilità vera della sostanza secca, ha raggiunto un valore medio pari a 71,6%. Per quanto riguarda gli ibridi di sorgo, il "Favorite" (tipologia da granella) e il "Surgo" (tipologia zuccherino) hanno raggiunto valori maggiori, rispettivamente 73,7 e 69,7%, confrontandoli con "Bulldozer" e "Freya" (tipologia da foraggio) che hanno riportato valori pari a 69 e 62,4 % rispettivamente. Tale risultato, probabilmente dovuto al contenuto di granella, è coerente con i dati rilevati precedentemente da Pesce *et al.* (2000) e Bolsen *et al.* (2003). Relativamente all'ibrido di mais (Kolosseus) si evidenzia un dato di TDMD maggiore rispetto agli ibridi di sorgo (83 vs. 68,7%). Emerge infine che l'interazione A x I ha influito su questo parametro ($P<0,05$), infatti si notano valori crescenti o decrescenti a seconda dell'ibrido passando da un'azienda all'altra.

I valori di produzione di gas, sia a 24 e anche a 48 ore di incubazione, degli ibridi analizzati derivanti dalle due aziende, possono essere ritenuti comparabili ($P>0,10$), con una produzione media di gas paria a 207 ml/g SS per il rilevamento a 24 ore e pari a 264 ml/g SS per il rilevamento a 48 ore. I sorghi "da foraggio" (Bulldozer e Freya), con modeste quantità di amido, hanno prodotto quantità minori di gas mentre le tipologie da granella e zuccherino hanno prodotto più gas rispetto agli altri ibridi. L'insilato di mais, ha prodotto una rilevante quantità di gas rispetto agli insilati di sorgo ($P<0,001$) e quindi ha presentato anche un maggiore valore energetico; ciò è dovuto ad una maggiore degradabilità dell'NDF e un più

alto contenuto di amido. Questo è coerente con i dati riportati da Calabrò *et al.*, 2007, i quali hanno effettuato uno studio con il liquido ruminale prelevato però non da bovine ma da bufali. I valori di GP osservati in questo studio sono, in media, in linea con quelli riportati da studi *in vitro* eseguiti precedentemente. Colombo *et al.* (2007) dall'incubazione di otto sorghi da foraggio hanno rilevato che la GP a 24 ore variava da 177 a 214 ml/g SS.

Nella Tabella 8 sono riportati i valori energetici dei vari ibridi oggetto di analisi. Tali valori sono espressi come EM (Energia Metabolizzabile) calcolata con l'equazione fornita dall'NRC e da Menke, EN_L (Energia Netta Lattazione) e UFL (Unità Foraggiere Latte).

Tabella 8. Valori energetici ottenuti con lo strumento ANKOM^{RF} Gas Production System. L'EM calcolata tramite le equazioni NRC e Menke, l'EN_L (MJ/kg SS) e le UFL (per kg di SS)

	EM _{NRC}	EM _{Menke}	EN _L	EN _L /ha	UFL	UFL/ha
Azienda 1-VE						
Bulldozer	9,2	7,9	4,5	30.500	0,64	4.338
Freya	8,5	7,9	4,5	48.000	0,64	6.827
Surgo	8,4	7,8	4,5	23.700	0,64	3.371
Favorite	9,9	8,9	5,2	32.000	0,73	4.492
Kolosseus	11,8	9,1	5,4	32.600	0,76	4.588
Azienda 2-RO						
Bulldozer	9,0	7,6	4,4	105.300	0,61	14.598
Freya	7,8	7,1	3,9	46.400	0,55	6.544
Surgo	9,6	8,8	5,2	59.800	0,73	8.395
Favorite	10,2	8,6	5,0	33.900	0,71	4.814
Kolosseus	12,0	10,9	6,6	121.000	0,93	17.050
SEM	0,38	0,37	0,26	-	0,21	-
Incubazione						
1	9,5	8,3	4,8	-	0,68	-
2	9,8	8,6	5,0	-	0,70	-
SEM	0,17	0,16	0,11	-	0,02	-
P values						
Azienda(A)	N.S.	N.S.	N.S.	-	N.S.	-
Ibrido(I)	<0,001	<0,001	<0,001	-	<0,001	-
A×I	N.S.	<0,01	<0,05	-	<0,05	-
Incubazione	N.S.	N.S.	N.S.	-	N.S.	-

EM: Energia Metabolizzabile; EN_L: Energia Netta Lattazione; UFL: Unità Foraggiere Latte; SEM: Standar Error of the Means, errore standard medio; A x I: interazione tra azienda e ibrido; N.S.: P>0,10.

Dall'analisi della Tabella 8 emerge che l'azienda non ha influenzato alcun parametro (P>0,10) mentre la tipologia di ibrido ha avuto un effetto significativo sui parametri presi in considerazione (P<0,001).

I dati riguardanti EM_{NRC} sono risultati in media pari a 9,63 MJ/kg SS. Prendendo in considerazione gli ibridi di sorgo, l'ibrido "Favorite" ha riportato valori superiori mentre

l'ibrido "Freya" ha riportato valori inferiori, rispettivamente pari a 10 e 8,1 MJ/kg SS. L'ibrido di mais ha riportato un valore più elevato rispetto a tutti gli ibridi di sorgo (11,9 vs. 9,1 MJ/kg SS). L'interazione A x I non ha influenzato significativamente questo parametro ($P > 0,10$).

I valori di EM_{Menke} sono in media pari a 8,6 MJ/kg SS. Come per l' EM_{NRC} , anche in questo caso i valori superiori per gli ibridi di sorgo li ha raggiunti il "Favorite" e quelli minori il "Freya" (rispettivamente 8,7 e 7,5 MJ/kg SS). Anche per l'ibrido di mais si è verificata la situazione vista in precedenza riportando un valore pari a 10 MJ/kg SS rispetto a 8,1 MJ/kg SS degli insilati di sorgo. Tale risultato si è verificato poiché il mais ha una maggiore produzione di gas e una migliore composizione chimica.

In media, valori energetici calcolati dalla produzione di gas *in vitro* a 24 ore (EM_{Menke}) risultano inferiori del 12% circa rispetto a quelli calcolati dall' $NDFd$ *in vitro* a 48 ore, come già riportato da altri autori (Tagliapietra *et al.*, 2011).

I dati riguardanti l'energia netta di lattazione (EN_L) hanno raggiunto un valore medio pari a 5 MJ/kg SS. Osservando i dati degli ibridi di sorgo emerge che i valori relativi all' EN_L sono risultati maggiori per l'ibrido "zuccherino" (Favorite), pari a 5,12 MJ/kg SS, seguito poi da: "Surgo", "Buldozer" e "Freya" (4,9, 4,4 e 4,2 MJ/kg SS, rispettivamente). L'insilato di mais ha riportato un valore pari a 6 MJ/kg SS. L'interazione A x I ha influenzato in maniera meno significativa questo parametro ($P < 0,05$); infatti non si riscontrano variazioni di grande entità passando dall'azienda di Venezia all'azienda di Rovigo.

Quando i valori di EN_L sono stati espressi per ettaro di superficie coltivata (NE_L/ha), sono emerse le differenze tra aziende, così come tra gli ibridi e anche dall'interazione A x I ($P < 0,001$). In media gli ibridi coltivati nell'azienda di Venezia hanno fornito valori minori di NE_L/ha rispetto a quelli coltivati nell'azienda di Rovigo (33.378 vs. 73.271 MJ/kg SS); probabilmente questo è accaduto perché l'azienda di Venezia non era dotata di un impianto di irrigazione. Osservando gli ibridi, le differenze si notano maggiormente nell'insilato di mais (in linea con le aspettative) e nell'insilato di sorgo "da foraggio" (Bulldozer). Gli ibridi da foraggio "Bulldozer" e "Freya" hanno mostrato valori di NE_L/ha maggiori rispetto al sorgo "da granella", sebbene avessero una composizione chimica sfavorevole e il contenuto energetico per kg SS più basso. Questo risultato è dovuto ad una maggiore resa per ettaro in biomassa osservata nell'ibrido "Bulldozer" (in media 15,9 t SS/ha) e nell'ibrido "Freya" (in media 11,2 t SS/ha) rispetto all'ibrido "Favorite" (in media 6,6 t SS/ha) (dati non riportati nelle Tabelle).

Ciò è coerente con la morfologia degli ibridi: l'ibrido "Bulldozer" (da foraggio) ha una resa in biomassa superiore, in quanto le piante hanno taglie maggiori, circa 5 m di altezza rispetto a 1,20-1,30 m dell'ibrido "Favorite".

Per quanto riguarda i dati di UFL (Unità Foraggiere Latte per kg di SS), è stato rilevato un dato medio pari a 0,70. Per quanto riguarda gli ibridi di sorgo si è rilevato un valore che si aggira sulle 0,60 UFL per kg di SS mentre per l'ibrido di mais il valore medio rilevato è pari a 0,85 UFL per kg di SS. L'interazione A x I ha influito su questo parametro ($P < 0,05$) ma non si notano grandi differenze passando da un'azienda all'altra; solo l'ibrido di mais passando dall'azienda di Venezia a quella di Rovigo ha evidenziato un aumento sostanziale di UFL (paria a +0,17 UFL/kg di SS), tali valori sono in linea con i dati riportati dall'NRC e anche da Crovetto (2005).

I valori di UFL risentono fortemente dell'NDFd. Gli insilati che hanno una maggiore produzione di gas, hanno anche un elevato contenuto di energia, intesa come EM e UFL (Crovetto, 2005).

I valori riportati per le UFL/ha seguono l'andamento già visto per il dato di EN_L /ha; si nota che nell'azienda di Venezia (che ha un impianto di irrigazione) questi valori sono aumentati di molto. Per l'ibrido "Bulldozer" il valore è più che triplicato, per l'ibrido "Surgo" è più che raddoppiato mentre per l'ibrido di mais, il valore è quasi quadruplicato.

4.3.2 ANKOM Daisy^{II} Incubator

I valori di NDFd, TDMd e EM_{NRC} rilevati con lo strumento ANKOM Daisy^{II} Incubator sono riportati nella Tabella 9 e risultano analoghi ai dati rilevati con lo strumento ANKOM^{RF} Gas Production System.

Tabella 9. Valori ottenuti con lo strumento ANKOM Daisy^{II} Incubator. Degradabilità NDFd e TDMd (%) e EM_{NRC} (MJ/kg SS)

	NDFd	TDMd	EM _{NRC}
Azienda 1-VE			
Bulldozer	52,3	66,3	8,5
Freya	44,3	65,5	8,4
Surgo	49,5	68,6	8,8
Favorite	45,6	73,2	9,9
Kolosseus	66,3	85,1	12,0
Azienda 2-RO			
Bulldozer	48,9	63,2	8,0
Freya	46,1	62,9	8,5
Surgo	52,2	72,6	9,7
Favorite	51,5	73,4	10,1
Kolosseus	55,9	81,9	11,9
SEM	1,39	0,76	0,18
Incubazione			
1	51,3	71,2	9,6
2	51,4	71,4	9,6
SEM	0,62	0,34	0,08
P values			
Azienda (A)	N.S.	<0,10	N.S.
Ibrido (I)	<0,001	<0,001	<0,001
A×I	<0,001	<0,001	<0,01
Incubazione	N.S.	N.S.	N.S.

NDFd: degradabilità della fibra resistente al detergente neutro; TDMd: degradabilità vera della sostanza secca; EM: Energia Metabolizzabile; SEM: Standar Error of the Means, errore standard medio; A x I: interazione tra azienda e ibrido; N.S.: P>0,10

Analizzando la Tabella sovrastante in modo generale, si evidenzia che l'ibrido e l'interazione A x I hanno influito sui valori analizzati (P<0,001) mentre l'effetto dell'incubazione non ha influito significativamente sui parametri oggetto di analisi (P>0,1).

I valori di NDFd non sono risultati diversi nelle due aziende, riportando un dato medio pari a 51,3% (P>0,10). Prendendo in considerazione i diversi ibridi di sorgo, l'ibrido "Bulldozer" e l'ibrido "Surgo" hanno riportato il valore più alto pari a 50,9%, seguiti dall'ibrido "Favorite" (48,9%) e dall'ibrido "Freya" (45,2%). L'ibrido di mais ha riportato il valore maggiore di NDFd rispetto agli ibridi di sorgo (61,1 vs. 48,9%); tale risultato si è

verificato molto probabilmente per il minor grado di lignificazione della fibra del mais. Passando dall'azienda di Venezia a quella di Rovigo si nota che ci sono valori crescenti o decrescenti a seconda dell'ibrido (A x I; $P < 0,001$).

La TDMd è stata influenzata dall'azienda ($P < 0,10$) evidenziando valori maggiori nell'azienda di Venezia rispetto all'azienda di Rovigo (72,6 vs. 68,6%). Gli ibridi di sorgo riportano valori più alti per il "Favorite", seguono poi "Surgo", "Bulldozer" e "Freya" (73,3; 70,6; 64,8 e 64,2%, rispettivamente). Per l'ibrido di mais la TDMd risulta maggiore rispetto agli ibridi analizzati (83,5 vs. 68,2%). Anche per questo parametro si nota una variazione dei valori passando da un'azienda all'altra (A x I; $P < 0,001$).

Il valore energetico riportato come EM_{NRC} , non è stato influenzato dall'azienda ($P > 0,10$) e ha riportato un dato pari a 9,6 MJ/kg SS. Per quanto riguarda gli ibridi di sorgo, il valore maggiore è riportato dall'ibrido "Favorite" seguito poi dall'ibrido "Surgo", "Freya" e "Bulldozer". L'ibrido di mais ha riportato il valore maggiore di EM_{NRC} rispetto agli altri ibridi (12 vs. 9 MJ/kg SS). L'interazione A x I non ha influito molto su questo parametro ($P < 0,10$).

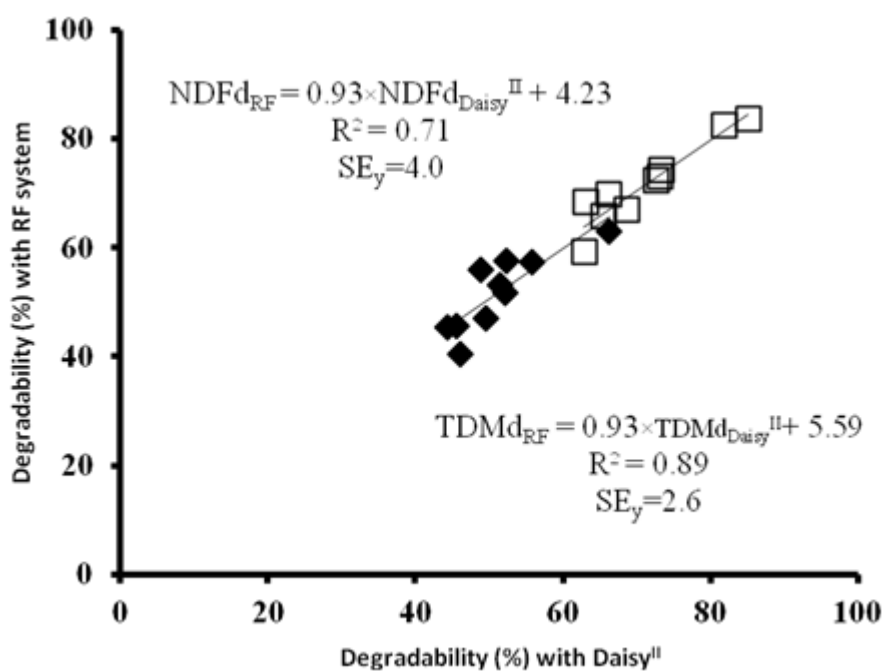
Il contenuto energetico, stimato a partire dai valori assunti dalle strumentazioni ANKOM (RF e Daisy), ha ripreso l'andamento dell'NDFd e della produzione di gas dei vari insilati. Valori maggiori si sono ottenuti per l'ibrido di mais rispetto agli ibridi di sorgo. Fra i sorghi, dati maggiori si sono rilevati nella varietà da granella rispetto alle varietà da foraggio.

Le caratteristiche nutrizionali e di conseguenza il contenuto energetico dell'insilato di mais sono variabili in base allo stadio di maturazione della pianta quando quest'ultima viene tagliata e trinciata ma anche in base alle irrigazioni che vengono effettuate. Mentre tali caratteristiche per l'insilato di sorgo dipendono anche dalla varietà che si sta considerando: da foraggio, da granella o zuccherino.

4.3.3 Confronto tra NDFd ottenuta con due modalità diverse

Nel Grafico 1 è riportata la relazione tra i valori di NDFd e TDMd ottenuti con lo strumento ANKOM^{RF} Gas Production System e ANKOM Daisy^{II} Incubator.

Grafico 1. Relazione tra la degradabilità dell’NDF (NDFd, %, ◆) e la degradabilità vera della sostanza secca (TDMd, %, □) dei cinque insilati ottenuta con il sistema RF e Daisy^{II}



I valori di NDFd ottenuti con lo strumento RF sono risultati mediamente più alti e più variabili, come evidenziato dai maggiori valori di SEM, rispetto a quelli forniti dal sistema Daisy^{II}. La maggiore variabilità dei dati di NDFd ottenuti con lo strumento RF potrebbe essere correlata alla determinazione dell’NDF residuo. Nel dettaglio il Fibertech Analyzer, usato per analizzare il fluido di fermentazione incubato con RF, comporta una maggiore manipolazione dei campioni rispetto all’ANKOM²²⁰ utilizzato per analizzare i sacchetti porosi incubati con il Daisy^{II}, questo può avere influenzato negativamente i risultati. I due diversi strumenti hanno comunque fornito valori con un soddisfacente grado di correlazione ($R^2=0,71$).

L’assenza di effetti significativi attribuibili all’incubazione ($P>0,10$) dimostrano una buona standardizzazione delle procedure di laboratorio impiegate ed una buona riproducibilità delle tecniche *in vitro* utilizzate.

5. Conclusioni

Da questo lavoro di tesi sono emerse alcune considerazioni conclusive:

✓ Gli ibridi di sorgo insilati, a prescindere dalla tipologia (da foraggio, zuccherino o da granella) e dall'azienda di coltivazione (Caorle a Venezia e Ceregnano a Rovigo), hanno evidenziato una diversa composizione chimica rispetto al mais con livelli inferiori di amido e contenuti più elevati di fibra. Conseguentemente il livello di digeribilità *in vitro*, di produzione di gas e il valore energetico, sono risultati, come atteso, più bassi negli insilati di sorgo rispetto all'insilato di mais. Gli ibridi di sorgo, "Bulldozer" e "Freya", che appartengono alla tipologia "da foraggio", hanno compensato la minor degradabilità dell'NDF e della sostanza secca, la minor produzione di gas e l'inferiore valore energetico con una maggiore resa di biomassa per ettaro rispetto alla tipologia "zuccherino" (Surgo) e da "granella" (Favorite).

✓ L'ibrido di sorgo insilato, "Favorite", che fa parte della tipologia "da granella", ha evidenziato dati di degradabilità e di valore energetico che si avvicinano maggiormente all'insilato di mais.

✓ L'ibrido di sorgo insilato, "Surgo", che rientra nella categoria "zuccherino" ha presentato caratteristiche intermedie tra la tipologia da "granella" e quella "da foraggio".

✓ Contrariamente a quanto osservato per gli insilati di sorgo, le produzioni e le caratteristiche nutrizionali dell'insilato di mais sono state molto influenzate dalla disponibilità di acqua, con risultati molto diversi nell'azienda irrigua rispetto a quella non irrigua.

✓ Le tecniche *in vitro* utilizzate hanno fornito informazioni utili per capire l'andamento delle fermentazioni ruminali degli insilati e per valutare in modo adeguato la loro destinazione a livello aziendale. Tali tecniche sono molto ripetibili considerando che le incubazioni successive hanno fornito risultati sovrapponibili.

In conclusione, i dati ottenuti possono dare delle indicazioni sia agli agricoltori, che agli allevatori sulla scelta delle varietà, da impiegare nelle aziende per la produzione di insilato.

Tale scelta deve essere fatta sulla base:

- delle peculiarità dei terreni e delle potenzialità delle diverse colture;
- dei fabbisogni energetici degli animali presenti nell'allevamento (manze, vacche), se l'insilato è destinato all'alimentazione e valutando la possibilità di sostituire parzialmente o totalmente l'insilato di mais con l'insilato di sorgo.

I risultati ottenuti in questa sperimentazione, dovranno tuttavia essere confermati anche attraverso prove effettuate *in vivo*, verificando fra l'altro anche l'appetibilità delle razioni.

6. Bibliografia

- Adewakun L. O., Famuyiwa A. O., Felix A. e Omole T. A., 1989.** Growth performance, feed intake and nutrient digestibility by beef calves fed sweet sorghum silage, corn silage and fescue hay. *Journal of Animal Science* 67: 1341-1349
- Anfuso F., Bailoni L., Bonino C., Causin R., De Liguoro M., Disegna L., Duso C., Furlan L., Gaspari E., Mosca G., Tealdo E. e Vio P., 2006.** Mais e sicurezza alimentare. Veneto Agricoltura, Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare
- Antongiovanni M., 2004.** Nutrizione degli animali in produzione zootecnica. L'utilizzazione degli alimenti nei ruminanti e nei monogastrici. Il valore energetico, 133-152. Bologna: Edagricole – Edizioni Agricole de Il Sole 24 ORE Edagricole S.r.l.
- AOAC International, 2003.** Official Method of Analysis. (17th ed. 2nd rev.). Gaithersburg, MD, USA: Association of Official Analytical Chemists International
- Avogaro P., Bonciarelli F., Bonsembiante M., Cantarelli C., Cavalli R., Cera M., D'Ambra V., Doglioni A., Ferro O., Frilli F., Lanari D., Lechi F., Lucisano M., Mordenti A., Parigi Bini R., Piva G. e Toniolo L., 1983.** Il mais. Liviana Editrice, Padova
- Battilani P., Bertolini M., Lo Pinto M., Marocco A., Meroni M., Severi D., Villa D. e Verderio A., 2013.** Malattie e alterazioni del mais. Guida pratica per l'identificazione. Quaderni della ricerca n. 155. Regione Lombardia Agricoltura
- Berenguer M. J. e Faci J. M., 2001.** Sorghum (*Sorghum Bicolor* L. Moench) yield compensation processes under different plant densities and variable water supply. *European Journal of Agronomy* (15): 43-55
- Bittante G., Andrighetto I. e Ramanzin M., 1990.** Fondamenti di zootecnia. Miglioramento genetico, nutrizione e alimentazione. Liviana editrice, Padova
- Bitzer M. e Pfeiffer T., 2013.** Sweet Sorghum for Syrup. UK Cooperative extension service. University of Kentucky - college of agriculture
- Bolsen K. K., 2002.** Grain and Forage Sorghum Silages: A Review of Cultivar, Maturity, and Processing Effects
- Bolsen K. K., Moore K. J., Coblenz W. K., Siefers M. K. e White J. S., 2003.** Sorghum silage. *Silage Science and Technology*. Al-Amoodi, L. (Ed.), Madison, WI, USA: 609-632

- Bouchard J., Chornet E. e Overen R. P., 1988.** High-performance liquid chromatographic monitoring carbohydrate fractions in partially hydrolysed corn starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 36: 1188-1192
- Buccafusca M., Craveri L., Evalli S., Galli M., Ghilardi C., Moroni C. e Reggiani R., 2013.** Sorgo da granella e sorgo da foraggio prove dimostrative on farm. Provincia di Monza Brianza
- Calabrò S., Tudisco R., Grossi M., Bovera F., Cutrignelli M. I., Gugliemi A., Piccolo V. e Infascelli F., 2007.** *In vitro* fermentation characteristics of corn and sorghum silages. *Italian Journal of Animal Science* 6 (2): 559-562
- Carmi A., Aharoni Y., Edelstein M., Umiel N., Hagiladi A., Yosef E., Nikbachat M., Zenou A. e Miron J., 2006.** Effects of irrigation and plant density on yield, composition and *in vitro* digestibility of a new forage sorghum variety, Tal, at two maturity stages. *Animal Feed Science and Technology* 131: 120-132
- Cattani M., 2011.** *In situ* and *in vitro* techniques for studying rumen fermentations: methodology and applications. Dipartimento di scienze animali. Scuola di dottorato di ricerca in: scienze animali. Indirizzo: allevamento, alimentazione, ambiente, benessere animale e qualità dei prodotti ciclo: XXIII. Università degli Studi di Padova, Legnaro
- Colombini S., Galassi G., Crovetto G. M. e Rapetti L., 2012.** Milk production, nitrogen balance, and fiber digestibility prediction of corn, whole plant grain sorghum, and forage sorghum silages in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 95 (8): 4457-4467
- Colombo D., Crovetto G. M., Colombini S., Galassi G. e Rapetti L., 2007.** Nutritive value of different hybrids of sorghum forage determined *in vitro*. *Italian Journal of Animal Science* 6 (1): 289-291
- Crovetto G. M., 2005.** Valore dei Foraggi Tradizionali e Alternativi e Sostenibilità delle Aziende Zootecniche Lombarde. Composizione chimica e valore nutritivo dei principali foraggi lombardi. Progetto "FORAGE" (n°688) della D.G. Agricoltura - Regione Lombardia
- Crovetto G. M., 2007.** Nel confronto tra foraggiere il sorgo ottiene buoni risultati. Il convegno di Verona supplemento all'informatore agrario 46: 12-14
- Czerkawski, J. W. e Breckenridge G., 1977.** Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 38: 371-389

- Dal Prà A., Immovilli A., Davolio R. e Reggiani R., 2014.** Sorgho per produrre biogas: le cultivar più performanti. *Agricoltura, Ricerca e sperimentazione-energie rinnovabili*: 50-52
- Dann H. M., Grant R. J., Cotanch K. W., Thomas E. D., Ballard C. S. e Rice R., 2008.** Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91 (2): 663-672
- De Matos Teixeira A., de Oliveira Ribeiro Junior G., Velasco F. O., de Faria Júnior W. G., Rodriguez N. M., Rodrigues J. A. S., McAllister T. e Gonçalves L. C., 2014.** Intake and digestibility of sorghum (*Sorghum bicolor*, L. Moench) silages with different tannin contents in sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia* 43 (1): 14-19
- Di Marco O. N., Ressia M. A., Arias S., Aello M. S. e Arzadun M., 2009.** Digestibility of forage silages from grain, sweet and bmr sorghum types: Comparison of *in vivo*, *in situ* and *in vitro* data. *Animal Feed Science and Technology* 153:161-168
- Disposizioni nazionali di applicazione del Regolamento (UE) n. 1307/2013** del Parlamento europeo e del Consiglio, del 17 dicembre 2013 (14A09733). *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n.295 del 20-12-2014
- Do Prado I. N., Maggioni D., Dos Santos Abrahão J. J., Velandia Valero M., do Prado R. M. e de Souza N. E., 2012.** Meat quality of crossbred bulls fed with sorghum silage or sugar cane and slaughtered at two levels of fat thickness. *Acta Scientiarum Technology* 34 (3): 337-344
- Frisio D., 2015.** Il mercato del mais: prospettive per il 2015. Università degli studi di Milano, Dipartimento di economia, management e metodi qualitativi. *Giornata del Mais*, Bergamo, 6 febbraio 2015
- Gallardo M. e Gagiotti M., 2004.** La reservas y lo deseable, calidad en forrajes conservados. *Manual de actualización técnica*. Merco Láctea, San Francisco, Córdoba, Argentina
- Gardner J. C., Maranville J. W. e Paporozzi E. T., 1994.** Nitrogen use efficiency among diverse sorghum cultivars. *Crop Science* 34:728-733
- Goering H. K. e Van Soest P. J., 1970.** Forage fibre analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook No 379*. Agricultural Research Service United States Department of Agriculture

- Guyer P. Q., 1978.** G78-395 Feeding corn and sorghum silage to beef cattle. Historical materials from University of Nebraska- Lincoln Extension 285
- Jones C. M., Heinrichs A. J., Roth G. W. e Ishler V. A., 2004.** From Harvest to Feed: Understanding Silage Management. Penn State Extension. The Pennsylvania State University
- Lopez S., Dhanoa M. S., Dijkstra J., Bannink A., Kebreab E. e France J., 2007.** Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Animal Feed Science and Technology* 135:139-156
- Menke K., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. e Schneider W., 1979.** The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture Science* 93: 217-222
- Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. e Schneider W., 1988.** Estimation of the energy feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 7-55
- Mertens D. R., 2002.** Gravimetric Determination of Amylase-Treated Neutral Detergent Fibre in Feeds with Refluxing in Beakers or Crucibles: Collaborative Study. *Journal of AOAC International* 85: 1217-1239
- National Research Council (NRC), 2001.** Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised edition. National Academy Press, Washington, DC, USA
- Newman Y., Erickson J., Vermerris W. e Wright D., 2010.** Forage Sorghum (*Sorghum bicolor*): overview and Management. Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida SS-AGR-333
- Ojeda F., Cáceres O. e Esperance M., 1991.** Conservación de Forrajes. Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, Cuba
- Oliver A. L., Grant R. J., Pendersen J. F. e O'Real J., 2004.** Comparison of Brown Mibrid-6 and -18 forage sorghum with conventional sorghum and corn silage in diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87 (3): 637-644

- Ørskov E. R. e McDonald I., 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agriculture Science* 92: 499-503
- Pesce D. M. C., Gonçalves L. C., Rodrigues N. M., Borges I. e Rodrigues J. A. S., 2000.** Percentage and loss of dry matter and *in vitro* dry matter digestibility of 20 sorghum genotypes silages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 52 (3): 250-255
- Regione Lombardia.** Progetto grandi colture e reti dimostrative cerealicole Sorgo 2011
- Regolamento (CEE) n. 1028/84 del CONSIGLIO del 31 marzo 1984** recante modifica del regolamento (CEE) n. 2731/75 che fissa le qualità tipo del frumento tenero, della segale, dell'orzo, del granturco e del frumento duro. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee*, 19.04.84, N. L. 107/17
- SAS® User's Guide, 2007.** 7th edition SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA
- Stern M. D., Bach A. e Calsamiglia S., 1997.** Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *Journal of Animal Science* 75 (8): 2256-2276
- Tagliapietra F., Cattani M., Hansen H. H., Hindrichsen I. K., Bailoni L. e Schiavon S., 2011.** Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h *in situ* NDF digestibility and on *in vitro* 24 h gas production methods. *Animal Feed Science and Technology* 170: 182-191
- Tilley J. M. A. e Terry R. A., 1963.** A two technique for the *in vitro* digestion of forage crop. *Journal of the British grassland society* 18: 104-111
- Weinberg Z. G., Khanal P., Yildiz C., Chen Y. e Arieli A., 2010.** Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. *Grassland Science* 57: 46-50
- Wester T. J., Gramlich S. M., Britton R. A. e Stock R. A., 1992.** Effect of grain sorghum hybrid on *in vitro* rate of starch disappearance and finishing performance of ruminants. *Journal of Animal Science* 70: 2866-2876
- Van Soest P.J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597
- Verzichi S. e Marinucci M. T., 2002.** L'impiego degli indicatori, con particolare riferimento agli n-alcani, per lo studio della dieta negli erbivori domestici e selvatici. *Webzine Sanità Pubblica Veterinaria* 15

6.1 Sitografia

ANKOM Technology. <http://www.ankom.com>: ultima consultazione aprile 2015

Assomais. <http://www.assomais.it/>: ultima consultazione maggio 2015

FAO. <http://www.faostat3.fao.org/>: ultima consultazione maggio 2015

KWS. <http://www.kws.it/>: ultima consultazione maggio 2015

SIVAM. <http://www.sivamspa.it/>: ultima consultazione maggio 2015

USDA. Coarse grains: world markets and trade. <http://www.usda.gov/>: ultima consultazione maggio 2015

Ringraziamenti

Desidero innanzitutto ringraziare la Professoressa Lucia Bailoni per la sua disponibilità e cordialità. Un immenso grazie va al Dottore Mirko Cattani per avermi seguito con pazienza durante la stesura di questa tesi e alla Dottoressa Laura Maccarana per i preziosi insegnamenti sulle procedure di laboratorio.

Un grazie di cuore è rivolto ai miei genitori, Lino e Orietta, che mi hanno sempre spronata e sostenuta in questa splendida esperienza.

Ringrazio mio fratello Francesco che mi ha aiutato quando ne avevo bisogno e che ha speso parte del suo tempo a leggere la bozza di questo lavoro.

Un grazie speciale va ad Andrea che mi è sempre stato accanto lungo questo percorso e che è riuscito a sostenermi quando ne avevo bisogno.

Un ringraziamento a mia nonna e ai miei due cugini che ogni giorno donano gioia e spensieratezza.

Inoltre desidero ringraziare gli amici, i compagni di corso e gli scout per i momenti vissuti assieme e il sostegno morale.