



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse naturali e Ambiente

Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Animali

**EFFETTO DELLA SOMMINISTRAZIONE DI
IMMUNOSTIMOLANTI NELLA FASE INIZIALE DI
LATTAZIONE SULLE PERFORMANCE DI BOVINE DA LATTE**

*Effect of administration of immunostimulants in the performance of early
lactating dairy cows*

Relatore

Ch.mo Prof. *Massimo De Marchi*

Correlatore

Dott.ssa *Silvia Magro*

Prof. *Federico Righi*

Laureando

Filippo Callegari

Matricola n. 1211236

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

Sommario

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	5
1. INTRODUZIONE	7
1.1 EFFICIENZA PRODUTTIVA DELLA VACCA DA LATTE	7
1.2 IL PERIODO DI TRANSIZIONE NELLA VACCA DA LATTE	7
1.3 PATOLOGIE FREQUENTI NELL'ALLEVAMENTO DELLA VACCA DA LATTE	9
1.3.1 Chetosi.....	9
1.3.2 Steatosi epatica.....	9
1.3.3 Ipocalcemia	10
1.3.4 Mastite	11
1.3.5 Metrite	11
1.3.6 Dislocazione dell'abomaso.....	12
1.4 UTILIZZO DI INTEGRATORI PER MIGLIORARE LE PERFORMANCE DELLA VACCA DA LATTE	13
2. OBIETTIVO DELL'ELABORATO.....	15
3. MATERIALI E METODI	17
3.1 CARATTERISTICHE DELL'AZIENDA DOVE È AVVENUTA LA PROVA.....	17
3.2 SOMMINISTRAZIONE BOLI.....	18
3.3 CAMPIONI DI LATTE	20
3.4 CAMPIONI DI SANGUE.....	21
3.5 CARATTERI DI FERTILITÀ E STATO DI SALUTE	21
3.6 ANALISI STATISTICHE	21
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	23
4.1 PRODUZIONE, COMPOSIZIONE E ATTITUDINE CASEARIA DEL LATTE.....	23
4.2 CARATTERI DI FERTILITÀ	27
4.3 VITAMINA E PLASMATICA, PROFILO METABOLICO E VITAMINE DEL LATTE A ED E	27
4.4 INCIDENZA DELLE PATOLOGIE	29
5. CONCLUSIONI.....	31
6. BIBLIOGRAFIA.....	32
7. RINGRAZIAMENTI.....	37

RIASSUNTO

Il ciclo produttivo di una bovina è limitato a un breve periodo: inizia al secondo anno di vita con il primo parto e dura approssimativamente tre lattazioni. Durante questo arco di tempo, diversi fattori possono influenzare la carriera dell'animale, tra cui patologie, problemi riproduttivi e malattie metaboliche. Il periodo di transizione, che va dalle tre settimane precedenti al parto alle tre settimane successive, è una fase critica per la salute, la produzione e la redditività. Le razze da latte altamente specializzate sono particolarmente suscettibili a infezioni e malattie metaboliche durante questa fase, a causa di cambiamenti nutrizionali, metabolici, ormonali e immunologici. L'applicazione della medicina etno-veterinaria, che comprende conoscenze tradizionali, abilità e pratiche nella cura degli animali, sta guadagnando interesse come mezzo per potenziare il sistema immunitario degli animali. Lo scopo di questo studio era di valutare l'effetto di boli contenenti quattro erbe (*S. alba*, *E. purpurea*, *S. marianum*, *C. folium*) sulle prestazioni di vacche Frisone nei primi 100 giorni di lattazione (DIM). Lo studio ha riguardato la produzione e la composizione del latte, le cellule somatiche (SCC), l'attitudine casearia del latte, il profilo metabolico, la fertilità e l'incidenza di patologie. Per la prova sono state selezionate un totale di 163 vacche di razza Frisone appartenente a un'azienda della regione Veneto (Italia). Le vacche sono state selezionate in base al livello del numero di cellule somatiche (SCC; alto > 250.000; basso < 250.000 cellule) nella lattazione precedente. Ogni vacca ha ricevuto 3 boli che sono stati somministrati oralmente prima dei 30 DIM. A 88 vacche, appartenenti al gruppo prova, sono stati somministrati i boli contenenti le erbe (HG, Group with Herbs), mentre a 75 animali, appartenenti al gruppo placebo (PG, Group with Placebo), sono stati somministrati boli placebo. A 30 DIM, 70 DIM e 100 DIM sono stati raccolti per ogni vacca, campioni di latte individuale. I campioni individuali di sangue sono stati presi a 30 DIM. Produzione di latte, composizione chimica del latte (grassi, proteine, caseina, lattosio), acidi grassi, SCS, attitudine casearia sono stati analizzati statisticamente utilizzando un modello che comprendeva gli effetti del trattamento (HG vs PG), livello di SCC, stagione di parto, tempo di campionamento, e la loro interazione come effetti fissi, e animali entro trattamento come effetto casuale. I risultati hanno evidenziato che l'utilizzo di boli non ha avuto alcun impatto significativo sulla produzione di latte e sulla composizione, né sui parametri ematici o tratti di fertilità. Tuttavia, i trigliceridi del plasma tendevano ad essere più bassi nelle vacche che ricevevano l'HG. In sintesi, sebbene l'uso di boli non abbia mostrato impatti significativi nei parametri studiati, la ricerca suggerisce che ulteriori approfondimenti siano necessari per comprendere appieno l'influenza di tali trattamenti sulla salute e sulle prestazioni delle bovine da latte.

ABSTRACT

The productive cycle of a bovine is confined to a short period, commencing in the second year of life with the first calving and lasting approximately through three lactations. During this timeframe, various factors can influence the animal's career, including diseases, reproductive issues, and metabolic disorders. The transition period, from three weeks pre-calving to three weeks post-calving, emerges as a critical phase for health, production, and profitability. Highly-specialized dairy breeds are particularly susceptible to infections and metabolic diseases during this phase due to nutritional, metabolic, hormonal, and immunological changes. The application of ethno-veterinary medicine, encompassing traditional knowledge, skills, and practices in animal care, is gaining interest as a means to enhance the animals' immune systems. The aim of this study was to evaluate the effect of boluses containing four herbs (*S. alba*, *E. purpurea*, *S. marianum*, *C. folium*) on the performance of Holstein cows in the first 100 days in milk (DIM). The study covered milk production and composition, somatic cell count (SCC), milk coagulation properties, metabolic profile, fertility traits, and incidence of diseases. A total of 163 Holstein cows from a farm in the Veneto region (Italy) were selected for the trial based on their SCC levels (high > 250,000; low < 250,000 cells) in the previous lactation. Each cow received three boluses orally before 30 DIM. Of these, 88 cows in the experimental group received herb-containing boluses (HG, Group with Herbs), while 75 cows in the placebo group received placebo boluses (PG, Group with Placebo). Individual milk samples were collected from each cow at 30 DIM, 70 DIM, and 100 DIM. Blood samples were taken at 30 DIM. Only animals sampled at these time points were retained for statistical analysis, totalling 72 cows (40 in HG and 32 in PG). Milk production, milk composition (fat, protein, casein, lactose), fatty acids, SCC, pH, and coagulation properties were studied using a model with treatment (HG vs PG), SCC level, calving season, sampling time, and their interactions as fixed effects, with animals within treatment as a random effect. The results highlighted that the use of boluses did not significantly impact milk production and composition, nor did it affect blood parameters or fertility traits. However, plasma triglycerides tended to be lower in cows receiving HG. It should be noted that the observed lack of effect may be associated with the administered dose or the selected time for evaluating the metabolic profile (30 DIM). In summary, while the use of boluses did not show significant effects on the studied parameters, the research suggests that further investigations are needed to fully understand the influence of such treatments on the health and performance of dairy cattle.

1. INTRODUZIONE

1.1 Efficienza produttiva della vacca da latte

La vita produttiva di una bovina dura, in realtà, un breve periodo: inizia al secondo anno di vita quando partorisce per la prima volta e dura per circa tre lattazioni. Infatti, per la razza Frisona Italiana l'età media al primo parto è di 2 anni e 2 mesi e il numero medio di lattazioni è di 2,79 (AIA, 2022). In questo arco di tempo, i fattori che influenzano la carriera dell'animale nell'azienda possono essere molteplici: patologie, difficoltà nella riproduzione, malattie metaboliche.

L'allevatore deve riuscire a massimizzare la resa dell'animale, in armonia con le necessità e disponibilità dell'azienda. Di qui l'importanza di fare proprie delle tecniche di gestione che assicurino il benessere al bovino, in ognuna delle sue fasi di vita. La fase più importante da tutelare, affinché siano ridotti i disturbi cui va soggetto l'animale, sono le tre settimane antecedenti e successive al parto. Questo periodo, in termine tecnico, viene chiamato il periodo di transizione.

Occorre partire però già dalla cura dei vitelli, dalla scelta dei capi esenti da malattie respiratorie e /o enteriche. Essi poi verranno sottoposti ad un oculato piano vaccinale per evitare le patologie infettive, contemporaneamente ad una accurata adozione di norme igienico sanitarie volte ad evitare patologie parassitarie. Talvolta però, alcune malattie metaboliche rimangono nascoste e latenti, causando uno stress fisico che può influenzare perfino la durata della vita del bovino, con le conseguenti perdite economiche per l'azienda. Una costante e metodica azione di controllo della mandria per scoprire tempestivamente le dismetabolie, la loro causa ed origine, permette di ridurre notevolmente i danni.

1.2 Il periodo di transizione nella vacca da latte

Il periodo di transizione è una fase critica per le vacche da latte che in genere varia da 3 settimane pre-parto a 3 settimane post-parto ed è potenzialmente critico in termini di salute, produzione e redditività. Infatti, durante questo periodo, l'incidenza di infezioni e malattie metaboliche tende ad essere alta in razze da latte altamente specializzate a causa di cambiamenti nutrizionali, metabolici, ormonali e immunologici (Loiselle et al., 2009; Gross e Bruckmaier 2019).

In particolare, in questa fase le vacche sperimentano un bilancio energetico negativo (BEN; Grummer et al., 2004), cioè una mancanza di equilibrio/compromesso tra input (apporto di energia e nutrienti) e output (crescita del feto, evoluzione del tessuto mammario, e secrezione di latte) così come un'alterazione del profilo ormonale che potrebbe portare a disturbi del metabolismo (metabolismo energetico e minerale) e infezioni (Esposito et al., 2014; Sundrum,2015).

Negli animali specializzati per la produzione di latte, la sintesi e la secrezione del latte sono la priorità metabolica (priorità “homeorhetic”). Dopo il parto, la concentrazione di glucosio plasmatico dovrebbe diminuire e per compensare questa mancanza di energia, si verifica la mobilitazione delle riserve corporee, che porta a concentrazioni anormali di biomarcatori del sangue come gli acidi grassi non sterificati (NEFA) e i corpi chetonici (ad es. beta-idrossibutirrato, BHB) (Benedet et al., 2019; Gross e Bruckmaier 2019).

Durante questo periodo, c'è anche una riduzione dei livelli di sangue Ca e P, che sono presenti in grande concentrazione sia nel colostro che nel latte (Megahed et al., 2018). Tutti questi cambiamenti metabolici possono portare a malattie metaboliche come la chetosi e l'ipocalcemia, con conseguente riduzione delle prestazioni riproduttive e aumentare il rischio della dislocazione dell'abomaso (Overton et al., 2017). Inoltre, in questo periodo, le vacche da latte subiscono uno stato naturale di immunosoppressione, che è spesso considerata la causa principale dell'alta vulnerabilità a malattie infettive come la mastite o la metrite (Mulligan e Doherty, 2007). È quindi essenziale un approccio di gestione ambientale e zootecnica mirato a ridurre, se non eliminare, il rischio di patologie durante il periodo precedente e successivo al parto. Inoltre, è fondamentale individuare tempestivamente gli animali problematici. L'obiettivo è evitare che le bovine si ammalino durante il periodo di transizione e/o ridurre drasticamente il numero. Ciò implica focalizzare l'attenzione su quattro pilastri chiave del programma di gestione: la gestione nutrizionale, la gestione ambientale, il comfort delle bovine, la gestione dell'asciutta e la prevenzione delle patologie. Pertanto, l'identificazione precoce dei disturbi metabolici subclinici, non manifesti da sintomi osservabili, riveste particolare importanza per intervenire tempestivamente nella gestione al fine di limitare le perdite e prevenire l'evoluzione verso una malattia clinica. Il periodo di asciutta è necessario per consentire la rigenerazione del tessuto mammario, garantendo così una produzione ottimale di latte nella successiva lattazione. Negli ultimi 30 anni, un periodo d'asciutta di 45-60 giorni è stato considerato il punto di riferimento nella gestione delle vacche da latte (Pascottini et al., 2020). L'utilizzo di diete specifiche, combinato con il miglioramento genetico, ha aumentato notevolmente la produzione di latte, rendendo quindi più difficile la cessazione della produzione. La messa in asciutta inizia circa una settimana prima dell'interruzione della mungitura, limitando l'apporto energetico. Le razioni a basso contenuto energetico possono essere ottenute riducendo i livelli di concentrati e aumentando il quantitativo di foraggio meno appetibile, o alimentando solo con foraggi. Uno dei principali fattori associati al successo della messa in asciutta è la quantità di latte che le vacche producono nel momento desiderato di cessazione della produzione. L'obiettivo è ridurre la produzione giornaliera di latte a meno di 15 Kg e successivamente interrompere bruscamente la mungitura.

La sospensione della mungitura per 45-60 giorni consente al fegato di esportare i grassi (trigliceridi) che ha accumulato nella lattazione precedente e permette il risanamento della mammella dai patogeni che inevitabilmente ha ospitato. I nutrienti che si forniscono in questo periodo servono, oltre a fornire supporto per la sintesi delle VLDL (Very Low-Density Lipoprotein) ed al sistema immunitario, per fare scorte di glicogeno, di proteine labili e minerali, per garantire un'adeguata crescita dei follicoli ovarici e per nutrire adeguatamente il feto (Pascottini et al., 2020).

1.3 Patologie frequenti nell'allevamento della vacca da latte

1.3.1 Chetosi

Intorno al parto, l'assunzione di sostanza secca spesso non riesce a soddisfare la domanda di energia sia per il mantenimento che la produzione di latte. Di conseguenza, le vacche da latte sperimentano comunemente un BEN; Grummer et al., 2004). In questo contesto, la glicemia derivata dalla gluconeogenesi diminuisce, portando ad un'eccessiva mobilitazione delle riserve adipose per fornire energia alternativa. Questo, a sua volta, si traduce in un aumento della concentrazione di NEFA e BHB nel sangue (Benedet et al., 2019). L'animale è in uno stato di chetosi quando ha valori di BHB nel sangue superiori a 1,2 mmol/l.

Sia la chetosi che l'iperchetonemia compromettono la funzione immunitaria, la salute, la resistenza alle malattie e la produzione di latte (McArt et al., 2013). Berge e Vertenten (2014) hanno riferito che fino al 53% delle singole vacche in una mandria da latte ha sperimentato la chetosi nei primi 35 giorni dopo il parto.

Le vacche possono sperimentare chetosi subclinica (SCK) o clinica (CK) che variano in gravità. Mentre CK si riferisce a una chiara manifestazione della malattia con sintomi evidenti ed è quindi facilmente rilevabile, SCK è spesso trascurato a causa della mancanza di chiare manifestazioni fisiologiche (Berge e Vertenten, 2014). In ogni caso, entrambe le forme richiedono l'uso di analisi biochimiche per il rilevamento ufficiale. Da un punto di vista economico, i disturbi metabolici influenzano il reddito degli agricoltori riducendo la produzione di latte, compromettendo le prestazioni riproduttive e la salute (McArt et al., 2013) e aumentando il tasso di rimonta e i costi veterinari (Seifi et al., 2011; Berge e Vertenten, 2014).

1.3.2 Steatosi epatica

La steatosi epatica è un disturbo delle vacche da latte altamente produttive derivante da un eccessivo BEN all'inizio della lattazione. La mobilitazione di grandi quantità di riserve di grasso corporeo in risposta a un insufficiente apporto di energia alimentare provoca un trasferimento di acidi grassi nel fegato. Quantità eccessive si depositano nell'epatocita come trigliceridi e possono causare disturbi della funzionalità epatica e lesioni alle cellule epatiche. La condizione è associata a chetosi

pronunciata, depressione dell'assunzione di cibo e diminuzione della produttività. Casi gravi possono portare a insufficienza epatica e ad un esito fatale (Grünberg, 2022).

L'implementazione di diete ad alta concentrazione di lipidi nelle bovine in lattazione, soprattutto se giungono al termine della gravidanza con un eccesso di grasso e durante la transizione sperimentano acidosi ruminale, aggrava notevolmente il rischio di steatosi epatica. La complessità nella diagnosi di questa patologia, spesso possibile solo attraverso biopsie epatiche e analisi ematochimiche, rende complesso calcolarne l'incidenza; tuttavia, è noto che il picco si verifichi nelle prime quattro settimane dopo il parto, coinvolgendo probabilmente il 50% delle bovine da latte.

Le bovine affette da steatosi epatica mostrano un prolungamento del periodo interparto, una riduzione del tasso di gravidanza e, soprattutto, un ritardo nella ripresa dell'attività ovarica post-partum. La compromissione delle performance riproduttive è associata a alterazioni nella sintesi e nel metabolismo degli ormoni sessuali principali, a una limitata disponibilità energetica dovuta all'alterazione della gluconeogenesi e a un meccanismo inefficace di detossicazione epatica di ammoniaca e altre tossine. Da sottolineare l'effetto negativo della steatosi epatica sull'efficienza del sistema immunitario, con numerose ricerche che evidenziano come questa patologia influenzi l'insorgenza, la durata e l'esito di malattie infettive come mastite e metrite.

Per garantire performance produttive, riproduttive ed economiche accettabili, è cruciale mantenere la piena efficienza del fegato. Tuttavia, ciò è particolarmente difficile considerando che il dimagrimento durante la fase di transizione è fisiologico. Strategie gestionali e nutrizionali attente, unite all'impiego di specifici additivi, possono produrre risultati evidenti nell'allevamento.

1.3.3 Ipocalcemia

L'ipocalcemia, comunemente chiamata febbre da latte, è stata descritta per la prima volta nel 1793. L'enorme e immediato fabbisogno di calcio (Ca) per il colostro e la produzione di latte, accompagnato con una normale diminuzione di ingestione di sostanza secca intorno al parto, crea un enorme deficit di Ca che richiede giorni per essere sistemato. Per mantenere le concentrazioni di Ca ad un livello necessario per la vita (ad esempio, termoregolazione, contrazione muscolare) trasferendo una grande quantità di colostro e latte, le vacche aumentano la secrezione di ormone paratiroideo che aumenta il rilascio di Ca dall'osso, diminuisce l'escrezione di Ca dal rene, e aumenta indirettamente l'assorbimento intestinale di Ca tramite mezzi di vitamina D-dipendente (DeGaris e Lean 2008). Poiché sono richieste concentrazioni sufficienti di magnesio (Mg) per una corretta interazione dell'ormone paratiroideo con il suo recettore, per la regolazione di Ca sono importanti anche adeguate concentrazioni di Mg nel sangue. La febbre del latte avviene quando le concentrazioni di Ca nel sangue diminuiscono più velocemente dei meccanismi omeostatici in grado di adattarsi alle esigenze della lattazione, con conseguente insufficienza di Ca per le normali funzioni corporee e debolezza

che possono progredire anche verso la morte. Le vacche affette da febbre da latte hanno concentrazioni sieriche o plasmatiche di Ca inferiori a 1,5 mmol/l. Pertanto, un coordinamento appropriato e tempestivo dei mediatori di regolazione Ca è essenziale. La febbre del latte colpisce circa il 2-5 per cento dei bovini da latte nel periodo post parto, con un'incidenza comune tra gli studi fatti in Nord America, Europa e Australia (DeGaris e Lean 2008).

1.3.4 Mastite

La mastite è una delle malattie più comuni e di impatto che possono verificarsi nelle vacche da latte in allattamento, causando perdite economiche per l'agricoltore e compromettendo la salute degli animali in lattazione. I costi della mastite sono attribuibili a i) trattamenti veterinari e aumento del tasso di rimonta, e ii) riduzione della produzione di latte e deterioramento della qualità del latte, cioè concentrazioni di grassi e proteine inferiori e pH del latte più elevato (Ruegg, 2017). L'infiammazione della ghiandola mammaria avviene dopo un'infezione intramammaria causata da microrganismi, compresi i batteri patogeni, alghe e lieviti. Raramente la mastite si manifesta a causa di eventi traumatici fisici (Bradley, 2002).

Nei bovini, la mastite può essere sia clinica (CM) o subclinica (SCM), la prima è caratterizzata da segni osservabili di una risposta infiammatoria dei tessuti delle mammelle, ad esempio, gonfiore, aumento della temperatura, arrossamento e dolore. L'infiammazione può colpire uno o più quarti o anche l'intera mammella, a seconda del tipo di microrganismi coinvolti, risposta immunitaria intrinseca, e la gravità. Il latte dai quarti mastitici/ghiandole mammarie è visivamente anormale, con struttura anomala, come coaguli e scolorimento del Secretum. Dall'altro lato, i segni SCM non sono evidenti e quindi non rilevabili né dal veterinario né dal personale dell'azienda. Per questo motivo, il SCM latente è pericoloso per la mandria, rendendo molto importante un'identificazione accurata e tempestiva (Heringstad et al., 2000).

1.3.5 Metrite

La metrite, condizione patologica particolarmente importante nelle bovine da latte, è un'infiammazione del miometrio e dell'endometrio che si può verificare nella nei primi 20 giorni di lattazione. In un allevamento di vacche da latte, circa il 20% delle bovine sono normalmente colpite da metrite (Gemmi et al., 2014). Durante la gravidanza l'utero è sterile; subito dopo il parto, si assiste ad un'intensa colonizzazione batterica. Da questo momento, sarà l'equilibrio tra il sistema immunitario della bovina e la capacità patogena dei batteri a determinare l'evoluzione in un post-parto fisiologico oppure patologico. Le basi patogenetiche della metrite sono strettamente legate ai vari aspetti di management, alimentari ed igienici dell'allevamento. Una sua alta incidenza è uno strumento che ci informa che qualcosa nel periodo di transizione non sta funzionando: un'incidenza

superiore al 15% sul totale numero di parti, considerata come soglia di allarme, infatti può essere un dato per valutare il successo o insuccesso del periodo di transizione (Smith, 2002).

Sono diversi i fattori predisponenti: le distocie, la gravidanza gemellare, la ritenzione della placenta, il prolasso dell'utero, la nascita di un vitello morto, il parto prematuro, le patologie metaboliche come la chetosi, la steatosi epatica, l'ipocalcemia, la dislocazione dell'abomaso, il numero di lattazioni e la stagione. Anche una ridotta ingestione nel pre-parto predispone alla metrite, attraverso incremento dei NEFA e del BHB che alterano il regolare funzionamento dei granulociti neutrofili. Inoltre il BEN deprime fino ad annullare la funzione immunitaria, legata ad un abbassamento del livello del glucosio. Esse incidono economicamente in modo importante: ogni evento di metrite costa all'incirca 300 euro, determina un peggioramento delle performance riproduttive della mandria, attraverso un allungamento degli open days (parto-concepimento), aumenta il numero di fecondazioni per gravidanza, dei tassi di morte embrionale ed innalza il tasso di riforma, soprattutto nei primi 60 giorni di lattazione (Giuliodori et al., 2013).

1.3.6 Dislocazione dell'abomaso

Lo spostamento dell'abomaso è una malattia multifattoriale che colpisce principalmente adulti di vacche da latte. La condizione si verifica principalmente dopo il parto, durante il picco di produzione di latte, quando le vacche sono alimentate da diete ad alto contenuto di concentrati e a basso contenuto di foraggi grossolani (Zadnik, 2003). Di solito le vacche colpite soffrono di più malattie tipiche del post parto, come ipocalcemia subclinica, chetosi, distocia e metrite. Altri fattori predisponenti per tale condizione possono essere la razza, l'età e la stagione. Normalmente, l'abomaso è pieno di contenuti liquidi e si trova sul pavimento cranio-ventrale destro dell'addome. Lo spostamento di solito si verifica quando l'abomaso si dilata con gas che porta ad atonia e migrazione verso il lato sinistro o destro dell'addome. Clinicamente, la condizione è caratterizzata da depressione, anoressia parziale o completa, disidratazione, perdita di peso, distensione addominale, disagio addominale, gonfiore cronico, e talvolta diarrea. Il trattamento prevede spesso la correzione chirurgica della dislocazione. La vacca può essere posizionata su un lato per facilitare la riapertura naturale dell'abomaso o, in alcuni casi, può essere necessaria un'operazione chirurgica per correggere la torsione o la dilatazione. La prevenzione è fondamentale e può coinvolgere una gestione attenta della dieta, evitare bruschi cambiamenti alimentari, fornire una dieta bilanciata, e gestire lo stress per ridurre il rischio di sviluppare la dislocazione dell'abomaso nelle vacche da latte (Gonzales-Martin et al., 2019).

1.4 Utilizzo di integratori per migliorare le performance della vacca da latte

C'è un crescente interesse nell'applicazione della medicina etno-veterinaria per migliorare il sistema immunitario degli animali. La medicina etno-veterinaria è il termine scientifico che copre conoscenza, abilità, metodi, pratiche e credenze delle persone sulla tradizionale assistenza sanitaria degli animali. La ricerca in questo contesto, dimostra che *Salix alba*, *Echinacea purpurea*, *Silybum marianum* e *Cynarae folium* sono stati utilizzati per i ruminanti (Lans et al., 2007). *Salix alba* (dorso di salice bianco) è ricco di composti bioattivi come salicina, polifenoli e flavonoidi (Piątczak et al., 2020). L'estratto di corteccia e foglie di *S. alba* ha una maggiore attività antiossidante, essendo almeno simile all'antiossidante naturale di riferimento (acido ascorbico) (Piątczak et al., 2020), e probabilmente collegato ai composti fenolici dell'estratto. Nel pollame, l'integrazione alimentare con *S. alba* ha dimostrato di migliorare lo stato ossidativo grazie alla promozione dell'attività protettiva degli enzimi antiossidanti contro l'ossidazione (Panaite et al., 2020). *Echinacea purpurea* è una pianta medicinale originaria del Nord America che ha importanti proprietà immunostimolanti e antinfiammatorie (Manayi et al., 2014). Gli effetti immunoregolatori di *E. purpurea* sono pensati per coinvolgere la stimolazione di produzione di cellule T, fagocitosi, attività linfocitaria, respirazione cellulare e inibizione della secrezione enzimatica ialuronidasi (Manayi et al., 2014). I composti attivi in *Echinacea* sono alchammidi, glicoproteine, polisaccaridi, composti fenolici e acidi cinnamici (Nasir e Grashom, 2009). L'estratto attivo di *Silybum marianum* (cardo mariano) è una miscela di flavonolignani (circa 70-80%) e frazione polifenolica e polimerica ossidata (circa 20-30%) (Radko e Cybulski, 2007). La frazione polifenolica è chiamata silimarina ed è usato per i suoi effetti epatoprotettivi (Radko e Cybulski, 2007). Ha anche effetti citoprotettivi grazie ai suoi antiossidanti e proprietà di "scavenging" dei radicali liberi (Radko e Cybulski, 2007). Nelle vacche da latte, l'effetto epatoprotettivo può alleviare la gravità della steatosi epatica nel periparto, riduce l'iperchetonemia e influenza positivamente il profilo metabolico degli enzimi epatici durante l'inizio della lattazione (Radko e Cybulski, 2007). *Cynarae folium* (carciofo) è nativo del Bacino del Mediterraneo e ha attività antiossidante. I principali composti biochimici sono i polifenoli e i flavonoidi (Salekzamani et al., 2019). Tuttavia, ci sono ancora studi in vivo limitati per sostenere l'effetto antiossidante osservato in studi in vitro (Salekzamani et al., 2019). Inoltre, l'uso di prodotti a base di erbe come mangimi additivi per rafforzare il sistema immunitario delle vacche potrebbero influire sulla qualità del latte.

2. OBIETTIVO DELL'ELABORATO

Lo scopo di questo studio era di valutare l'effetto della somministrazione di boli composti da 4 erbe (*S. alba*, *E. purpurea*, *S. marianum*, *C. folium*) sulle prestazioni di vacche di razza Frisona nei primi 100 giorni di lattazione. In una stalla di vacche da latte non sperimentale sono stati individuati 2 gruppi di bovine (trattato vs. controllo) e durante un periodo di 100 giorni sono stati svolti prelievi di latte e sangue per studiare l'effetto della somministrazione dei boli con immunostimolanti su:

- Produzione e composizione di latte
- Cellule somatiche
- Attitudine casearia
- Profilo metabolico
- Caratteri di fertilità
- Incidenza di patologie

3. MATERIALI E METODI

3.1 Caratteristiche dell'azienda dove è avvenuta la prova

I protocolli di campionamento e manipolazione degli animali sono stati approvati dal Comitato Etico per la Cura e l'Uso degli Animali Sperimentali dell'Università di Parma ed eseguiti in conformità alla direttiva UE 2010/63/UE per la sperimentazione animale.

La prova sperimentale di questa tesi è stata svolta in un'azienda di grandi dimensioni situata a Padova, una provincia del Veneto (Italia) da agosto 2020 a marzo 2021. Questa azienda al momento della prova sperimentale presentava circa 1.018 vacche di razza Frisona in lattazione con produzione media di latte di 33 kg/giorno. La produzione di latte totale era di circa 33.000 litri al giorno, venduto come latte alimentare. Nel periodo della prova, l'allevamento presentava 27% di tasso di gravidanza (Pregnancy rate), 64% di tasso di rilevamento calori (heat dectation rate) e 44% di tasso di concepimento (conception rate). Tutte le fecondazioni vengono effettuate tramite l'utilizzo di piani di sincronizzazione. Gli animali erano allevati in stabulazione libera e la mungitura avveniva due volte al giorno tramite giostra con 80 poste. Al momento della prova sperimentale erano presenti diverse diete: animali in lattazione, animali a fine lattazione e animali in asciutta. In particolare, la dieta degli animali a inizio e piena lattazione era costituita da silomais, insilato di prato polifita, fieno di medica, granella di mais, farina di soia, farina di estrazione di colza, melasso, grasso frazionato, glicerolo (84%), urea e sali (calcio carbonato, sodio bicarbonato e sodio cloruro). In Figura 1 sono riportati i valori nutritivi.

Figura 1- Analisi chimiche della razione somministrata alle vacche ad inizio-piena lattazione.

Nutrient	Unità	SS	Apporti	Unità
S.S.	%	55,8363	25,3804	kg
aNDFom	%	28,3397	7.192,7330	gr
peNDF	%	21,1946	5.379,2670	gr
ADF	%	18,3207	4.649,8590	gr
ADL	%	3,3287	844,8355	gr
NFC	%	44,5592	11.309,3000	gr
Zuccheri (WSC)	%	8,7915	2.231,3090	gr
Amidi	%	24,0722	6.109,6200	gr
PG	%	15,9038	4.036,4360	gr
PG solubili	%	6,4620	1.640,0920	gr
RDP 3x Level 1	%	10,0387	2.547,8590	gr
RUP 3x Level 1	%	5,8363	1.481,2720	gr
ENI 3x NRC	Mcal/kg	1,7321	43,9624	Mcal
EE	%	4,5138	1.145,6310	gr
Ceneri	%	6,9823	1.772,1490	gr
Ca	%	0,7843	199,0607	gr
P	%	0,4068	103,2580	gr
Mg	%	0,3035	77,0344	gr
K	%	1,2772	324,1612	gr
Na	%	0,3386	85,9300	gr
Cl	%	0,4900	124,3578	gr
S	%	0,2387	60,5923	gr

Mn totale	ppm	73,6403	1.869,0210	mg/g
Cu totale	ppm	23,9153	606,9802	mg/g
Fe totale	ppm	242,2461	6.148,3070	mg/g
Zn totale	ppm	90,2599	2.290,8320	mg/g
I totale	ppm	0,5751	14,5962	mg/g
Co totale	ppm	0,3242	8,2276	mg/g
Se totale	ppm	0,5236	13,2888	mg/g
Mo totale	ppm	1,2074	30,6430	mg/g
Cr totale	ppb			
Vit. A	UI/kg	7.683,1100	195.000,5000	UI/g
Vit. D3	UI/kg	1.773,0250	45.000,1100	UI/g
Vit. E	mg/kg	59,1009	1.500,0040	mg/g
Vit. PP - Niacina	mg/kg	230,4933	5.850,0150	mg/g
Vit. B1	mg/kg			
Vit. B2	mg/kg			
Vit. B6	mg/kg			
Acido Pantotenico	mg/kg			
Vit. B12	mg/kg	0,0222	0,5625	mg/g
Colina	mg/kg			
Biotina	mg/kg	1,1820	30,0001	mg/g
Betaina	mg/kg			
Vit. C	mg/kg			
Vit. H1	mg/kg			
LYS	%CP		4,2801	%CP
MET	%CP		1,4692	%CP
LYS	%	0,6807	172,7641	gr
MET	%	0,2337	59,3024	gr
UFL	unità/kg	0,8908	22,6083	unità

Verso fine lattazione, la razione era costituita da: silomais, insilato di prato polifita, fieno di medica, granella di mais, farina di estrazione di colza, farina di soia, melasso, grasso idrogenato, sali (calcio carbonato, sodio bicarbonato e sodio cloruro) e integratore vitaminico per vacche in lattazione.

Per quanto riguarda l'asciutta, per i primi 40 giorni le bovine venivano alimentate con la seguente razione: silomais, paglia di frumento, insilato di fieno polifita, fieno polifita, farina di estrazione di colza, farina di soia e integratore vitaminico per vacche in asciutta. A circa 21-25 giorni dalla data prevista di parto, venivano spostate nel gruppo di pre-parto, stabulato in lettiera permanente, dove in media avevano 12 metri quadrati a capo. Nella razione di pre-parto non si puntava ad avere un DCAD (differenza tra cationi ed anioni nella dieta) negativo, ma come strategia per contenere ipocalcemia si ricorreva all'utilizzo di un prodotto di calcio assorbente a base di zeolite (X-Zelit).

3.2 Somministrazione boli

A partire dal 5 agosto 2020, sono state selezionate per la prova un totale di 163 vacche di razza Frisona. Le vacche sono state selezionate in base al livello del numero di cellule somatiche (SCC; alto > 250.000; basso < 250.000 cellule) nella lattazione precedente. La prova sperimentale ha seguito gli animali fino a 100 DIM. Ogni vacca ha ricevuto 3 boli (20 mg/vacca e giorno) che sono stati somministrati oralmente prima dei 30 DIM. I giorni di somministrazione sono stati:

- 7°-10° giorno post-parto;
- 15°-20° giorno post-parto;

- 29° giorno post-parto.

A 88 vacche, appartenenti al gruppo prova, sono stati somministrati i boli contenenti le erbe (HG, Group with Herbs), mentre a 75 animali, appartenenti al gruppo placebo (PG, Group with Placebo), sono stati somministrati boli placebo. I boli sono stati fabbricati da Biotrade S.N.C. di Malavasi C. a C. (Mirandola, Modena, Italia) nell'ambito della LINEA ACTIVE-X (Figura 2). I boli contenti erbe consistevano in 20 mg di una miscela di farina d'orzo, carbonato di calcio e 4 erbe: *Salix alba* (corteccia), *Echinacea purpurea* (radice di erbe), *Silybum marianum* (estratto di piante secche) e *Cynarae folium*. Queste erbe sono prodotte dallo stabilimento GMP di Biotrade S.N.C. (Italia). Mentre nel bolo placebo, le erbe sono state sostituite da farina d'orzo.

Il bolo stesso è stato fatto di polimeri naturali che solubilizzano in breve tempo nel rumine, quindi non rimarranno residui. I boli sono stati somministrati con un apposito applicatore di boli. Un bolo viene utilizzato per garantire una dose controllata che non sarebbe possibile se le erbe fossero fornite con la razione delle vacche. L'applicazione di un bolo è una pratica comune in medicina veterinaria per garantire che le molecole attive somministrate siano completamente e correttamente ingerite. Oltre alla dose controllata, il bolo consente anche la creazione di gruppi "virtuali" senza alcuna necessità di separazione degli animali. Possiamo somministrare trattamenti specifici a specifiche vacche lasciandole nello stesso ambiente e esattamente nelle stesse condizioni. La somministrazione di un bolo consente la verifica dell'efficacia di un prodotto naturale nel modo più efficace possibile.

Figura 2- Trattamenti applicati durante la prova sperimentale, A) bolo contenente erbe e B) bolo con placebo

A) Bolo con 4 erbe (4 erbe: *Salix alba*, *Echinacea purpurea*, *Silybum marianum* e *Cynarae folium*)

B) Bolo con placebo



3.3 Campioni di latte

All'inizio dello studio, e a 30 DIM, 70 DIM e 100 DIM sono stati raccolti per ogni vacca, campioni di latte individuale durante la mungitura del mattino. Per il campionamento sono state utilizzate provette da 50 mL contenute un Bronopol (Knoll Pharmaceuticals, Nottingham, Regno Unito. Nello stesso giorno del campionamento del latte individuale è stata registrata la produzione di latte giornaliera.

I campioni di latte, una volta raccolti, sono stati trasportati al laboratorio dell'Associazione Allevatori della Regione Veneto (ARAV, Padova) per essere analizzati attraverso il MilkoScan FT6000 (Foss Electric A/S, Hillerød, Danimarca) per la determinazione della composizione chimica del latte. In particolare, è stata determinata la percentuale di grassi, proteine, caseine e lattosio, e la concentrazione degli acidi grassi in g/100 g di latte: C14:00, C16:00, C18:00, C18:1, acidi grassi saturi (SFA); acidi grassi monoinsaturi (MUFA); acidi grassi polinsaturi (PUFA); acidi grassi a catena corta (SCFA); acidi grassi a catena media (MCFA); acidi grassi a catena lunga (LCFA). Il pH è stato misurato con un misuratore di pH digitale (PH-Burette 24; Crison Instrument SA, Barcellona, Spagna). Attraverso il lattodinamografo (Formagraph; Foss Analytics) è stata valutata l'attitudine casearia del latte: RCT, A₃₀ e k₂₀. RCT, abbreviazione di "rennet coagulation time" è il tempo di coagulazione dall'aggiunta del caglio; a₃₀ è la consistenza del coagulo a 30 min dopo l'aggiunta del caglio al latte e k₂₀ è il tempo di rassodamento della cagliata.

Il conteggio delle cellule somatiche, in inglese somatic cell score (SCC, cellule/mL) è stato determinato utilizzando Cell Fossomatic (Foss Electric A/S) e trasformato in punteggio di cellule somatiche (Somatic Cell Score, SCS), secondo Wiggans and Shook (1987): $SCS = 3 + \log_2(SCC/100.000)$. Il latte corretto ad energia, in inglese Energy Corrected Milk (ECM; 3.140 MJ/kg) è stato calcolato come descritto da Sjaunja et al. (1991) utilizzando la seguente equazione: $ECM (kg) = \text{produzione latte (kg)} \times [(38,3 \times \text{g di grasso/kg} + 24,2 \times \text{proteina kg/d} + 15,7 \times \text{lattosio g/kg} + 20,7)/3140]$.

La concentrazione di α -tocoferolo nel latte è stata determinata mediante fluorimetro/spettrofotometro di iCheck (iCheck Vitamina E; BioAnalyt GmbH, Teltow, Germania). La concentrazione di vitamina A nel latte è stata testata da Bovine Vitamin A (VA) Kit ELISA (AssayGenie, Dublino, Irlanda) e il colore dei campioni di latte è stato registrato dallo strumento Minolta. Il colore giallo del latte viene conferito per il contenuto di carotenoidi (Prache et al., 2002) ed è stata riportata una correlazione lineare tra il contenuto di β -carotene nel latte e colore ($R^2 = 0,37$; Calderòn et al., 2007).

3.4 Campioni di sangue

I campioni individuali di sangue sono stati presi a 30 DIM, quando tutte le vacche avevano ricevuto la terza somministrazione di bolo. Il prelievo di sangue è stato fatto dalla vena giugulare utilizzando provette da 10 ml contenenti eparina di litio (Terumo Venosafe 10 ml VF-109SHL Terumo Europe L.V., Leuven, Belgio). Le analisi sono state effettuate presso il laboratorio di analisi dei mangimi presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Parma (Italia). Il plasma è stato estratto da campioni di sangue mediante centrifugazione a 3000 g per 15 minuti. La concentrazione di α -tocoferolo plasmatico è stata determinata da iCheck fluorimetro/spettrofotometro (iCheck Vitamin E; BioAnalyt GmbH, Teltow, Germania). Il profilo metabolico include: proteine plasmatiche totali, albumina, globulina, albumina/globulina, urea, NEFA, glucosio, creatin-chinasi, BHB, colesterolo totale, trigliceridi, aspartato aminotransferasi (AST-GOT), gamma-glutamyl transferasi (GGT), bilirubina totale, Ca, P, e Mg.

3.5 Caratteri di fertilità e stato di salute

Gli esami ginecologici sono stati effettuati una volta alla settimana. I parametri presi in considerazione sono stati: giorni alla prima inseminazione artificiale (IA), days open e intervallo parto-concepimento. Lo stato di salute degli animali è stato monitorato e gli animali che presentavano una patologia sono stati trattati e rimosso dallo studio. Le patologie rilevate sono state: metrite, endometrite, ritenzione di placenta, mastite, dislocazione dell'abomaso, patologie respiratorie, enteriche e podali.

3.6 Analisi statistiche

Solo gli animali che furono sottoposti a campionamento a 30, 70 e 100 DIM sono stati conservati per l'analisi statistica. Pertanto, sono stati utilizzati per l'analisi statistica 72 vacche di cui 40 appartenenti al HG e 32 al PG.

Produzione di latte, ECM, composizione chimica del latte (grassi, proteine, caseina, lattosio), singoli acidi grassi (C14:00, C16:00, C18:00, C18:1), gruppi di acidi grassi (SFA, MUFA, PUFA, SCFA, MCFA, LCFA), SCS, pH, parametri di attitudine casearia (RCT, A₃₀ e K₂₀) sono stati studiati attraverso la procedura MIXED di SAS ver. 9.4, utilizzando un modello che comprendeva trattamento (HG vs PG), livello di SCC (alto > 250.000; basso < 250.000 cellule), stagione di parto, tempo di campionamento (30 DIM, 70 DIM e 100 DIM), e la loro interazione (doppio, triplo e quarto) come effetti fissi, e animali entro trattamento come effetto casuale.

Dai 198 campioni analizzati per α -tocoferolo del latte solo 53 erano da campioni di animali a 30, 70 e 100 DIM; a causa di questo abbiamo deciso di valutare il α -tocoferolo del latte solo a 30 DIM insieme alla vitamina E plasmatica.

La vitamina E plasmatica, i parametri plasmatici e i tratti di fertilità e i dati del α -tocoferolo del latte furono valutati a 30 DIM attraverso la procedura MIXED di SAS ver. 9.4, utilizzando un modello che comprendeva trattamento (HG vs PG), livello di SCC (alto > 250.000; basso < 250.000 cellule) e la loro interazione come effetti fissi, e animali entro trattamento come effetto casuale. Inoltre, la correlazione di Pearson tra il contenuto plasmatico e di vitamina E del latte è stata valutata utilizzando PROC CORR di SAS. I risultati sono riportati come medie stimate e la significatività è stata dichiarata a $P < 0.05$ se non diversamente indicato.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

Delle 163 vacche iscritte all'inizio dello studio, solo 72 (HG = 40; PG =32) hanno presentato campioni di latte nei tre punti di campionamento (30, 70 e 100 DIM). Per poter valutare l'evoluzione delle caratteristiche del latte durante tutto lo studio, solo gli animali sottoposti a campionamento nei tre punti di campionamento menzionati sono stati considerati.

4.1 Produzione, composizione e attitudine casearia del latte

La tabella 1 riporta la significatività dei principali effetti fissi considerati nel modello e l'interazione Trattamento x Tempo di campionamento x Classi SCC. I risultati hanno mostrato che l'effetto fisso del trattamento somministrato (HG vs PG) non ha influenzato la produzione e la composizione di latte, né le proprietà di coagulazione. Anche il livello di SCC nella precedente lattazione, o l'interazione Trattamento x Tempo di campionamento x Classi SCC non ha evidenziato nessun effetto sui caratteri studiati.

Tuttavia, il tempo di campionamento ha influenzato in modo significativo l'ECM, composizione del latte (percentuale di grasso, proteina, caseina e lattosio), singoli acidi grassi valutati (C14:00, C16:00, C18:00, C18:1) e SFA SCFA e MCFA. La stagione di parto è stata significativa per il contenuto di proteine e caseina, C14:0, C16:0 e MCFA. Questi risultati hanno concordato con i precedenti studi che hanno riportato un effetto significativo dello stadio di lattazione sulla produzione di latte, ECM, composizione del latte (Manuelian et al., 2019; Franzoi et al., 2020) e sui singoli gruppi di acidi grassi (Manuelian et al.,2019).

Tabella 1- Significatività dei principali effetti fissi considerati nel modello e nell'interazione Trattamento x Tempo di campionamento x Classi SCC per i parametri latte considerati¹.

	Trattamento	Tempo di campionamento	Stagione di parto	Classi SCC	Trattamento x Tempo di campionamento x Gruppo SCC
Produzione di latte, kg/d	0.926	0.891	0.408	0.502	0.499
ECM, kg/d	0.806	0.031	0.172	0.605	0.458
Grasso, %	0.675	0.048	0.463	0.758	0.900
Proteina, %	0.346	<0.001	0.04	0.706	0.368
Caseina, %	0.337	<0.001	0.027	0.66	0.344
Lattosio, %	0.268	<0.001	0.18	0.789	0.34
SCS	0.507	0.773	0.087	0.118	0.636
pH	0.932	0.554	0.09	0.824	0.323
Proprietà coagulanti					
RCT, min	0.814	0.275	0.92	0.932	0.368
A ₃₀ , mm	0.768	0.16	0.735	0.608	0.786
K ₂₀ , min	0.942	0.148	0.85	0.672	0.834
Acidi grassi, g/100g di latte					
C14:0	0.899	0.001	0.031	0.309	0.769
C16:0	0.895	0.024	0.004	0.421	0.747
C18:0	0.611	0.02	0.326	0.919	0.861
C18:1	0.751	0.04	0.807	0.875	0.862
SFA	0.822	0.005	0.053	0.658	0.751
MUFA	0.664	0.167	0.991	0.681	0.883
PUFA	0.626	0.136	0.172	0.868	0.631
SCFA	0.796	0.001	0.223	0.78	0.716
MCFA	0.948	0.004	0.001	0.431	0.763
LCFA	0.671	0.128	0.876	0.796	0.731

¹ECM, latte a correzione energetica; SCS, punteggio delle cellule somatiche; RCT, tempo di coagulazione; A₃₀, consistenza della cagliata a 30 min dall'aggiunta di caglio al latte; K₂₀, tempo di rassodamento della cagliata; SFA, acidi grassi saturi; MUFA, acidi grassi monoinsaturi; PUFA, acidi grassi polinsaturi; SCFA, acidi grassi a catena corta; MCFA, acidi grassi a catena media; LCFA, acidi grassi a catena lunga.

Le medie stimate sono riportate nella tabella 2. Come già indicato in precedenza, i risultati hanno rivelato che i gruppi della prova (HG; PG) non differiscono all'interno di ogni livello di SCC (alto e basso) in qualsiasi punto di campionamento. In accordo con i nostri risultati, Pierson (2007) non ha osservato differenze sulla produzione del latte e la composizione quando alle vacche erano state

integrate durante 70 giorni con 180 g di corteccia di salice bianco insieme a 40 g di estratto di quercetina al 95% e 24 g di estratto di naringina al 95%.

Tuttavia, Salem et al. (2014) ha riferito che l'aggiunta giornaliera di 150 e 300 ml di *Salix babylonica* nelle diete casearie delle vacche di razza Bruna a fine lattazione hanno aumentato la produzione di latte di circa il 13,3% e 8,9%. Tuttavia, è diminuito il contenuto di grasso del latte ma non è stato influenzato il contenuto di proteina e lattosio grazie ad un miglioramento della fermentazione ruminale. In accordo con i nostri risultati, Dymnicka et al. (2004) ha osservato che le vacche che ricevono 300 g di farina secca di Echinacea per 3 settimane a partire dai 10 giorni prima della data prevista per il parto ha dimostrato che SCC era simile tra i gruppi dopo uno, due e tre mesi dopo il parto. Inoltre, i nostri risultati erano in linea con Reklewska et al. (2004) che ha riferito che le capre da latte che ricevono estratto di *E. Purpurea* (600 mg di estratto/al giorno) per due settimane non ha influenzato la produzione del latte, lattosio e contenuto di latticini. Tuttavia, è stata osservata una piccola diminuzione significativa transitoria di proteine ed aumento del contenuto di grassi. Nelle vacche con steatosi epatica subclinica, l'integrazione con di 20 g di Silimarina/testa/giorno durante il periparto ha mostrato una maggiore produzione di latte e una diminuzione della percentuale di grasso e proteina del latte rispetto al gruppo di controllo (Ulger et al, 2017).

L'inclusione del 12,4% e del 25,0% di insilato di sottoprodotti del carciofo (*Cynara scolymus L.*) nelle diete caprine, ha mostrato un maggiore contenuto di grasso nel latte quando si usano le brattee di carciofo al 25%, e il contenuto di proteina del latte e anche quando si utilizza il 25% di pianta di carciofo (Monllor et al., 2020). Inoltre, il livello di inclusione di 12,5% di pianta di carciofo ha aumentato il contenuto di PUFA nel latte (Monllor et al., 2020). Tuttavia, la composizione del latte, il colore, la stabilità, la coagulazione e le proprietà di fermentazione sono rimaste inalterate quando sono incluse in diete isoproteiche e isoenergetiche per capre da latte fino al 25% di sottoprodotti di carciofo (Muelas et al.,2017), che concorda con i nostri risultati.

Tabella 2- Medie stimate (errore standard) per Herbs Group (HG) e il Placebo Group (PG) in ciascun punto di campionamento per ogni livello di cellule somatiche (SCC) per i parametri latte considerati¹. Non sono state osservate differenze significative.

	30 DIM				70 DIM				100 DIM			
	SCC Basse		SCC Alte		SCC Basse		SCC Alte		SCC Basse		SCC Alte	
	HG (n=23)	PG (n=21)	HG (n=17)	PG (n=11)	HG (n=23)	PG (n=21)	HG (n=17)	PG (n=11)	HG (n=23)	PG (n=21)	HG (n=17)	PG (n=11)
Produzione di latte, kg/d	45.53 (2.78)	42.85 (2.64)	51.23 (2.83)	45.81 (3.95)	46.20 (2.78)	46.57 (2.80)	45.58 (2.83)	49.77 (3.95)	45.87 (2.78)	47.80 (2.64)	45.05 (2.91)	48.15 (3.95)
ECM, kg/d	41.36 (2.93)	38.43 (2.78)	44.72 (2.98)	38.67 (4.16)	41.61 (2.93)	41.89 (2.99)	41.59 (2.98)	47.13 (4.16)	37.25 (2.93)	40.08 (2.78)	36.26 (3.09)	40.52 (4.16)
Grasso, %	3.43 (0.31)	3.45 (0.29)	3.19 (0.31)	3.01 (0.44)	3.30 (0.31)	3.25 (0.29)	3.38 (0.31)	3.52 (0.44)	2.73 (0.31)	2.93 (0.29)	2.61 (0.31)	2.99 (0.44)
Proteina, %	3.19 (0.10)	2.98 (0.09)	3.11 (0.10)	2.95 (0.14)	3.36 (0.10)	3.22 (0.09)	3.34 (0.10)	3.54 (0.14)	3.23 (0.10)	3.13 (0.09)	3.20 (0.10)	3.15 (0.14)
Caseine, %	2.50 (0.08)	2.31 (0.08)	2.43 (0.08)	2.30 (0.11)	2.64 (0.08)	2.51 (0.08)	2.61 (0.08)	2.79 (0.11)	2.51 (0.08)	2.43 (0.08)	2.49 (0.08)	2.45 (0.11)
Lattosio, %	4.76 (0.06)	4.73 (0.06)	4.80 (0.06)	4.78 (0.08)	4.76 (0.06)	4.52 (0.08)	4.64 (0.06)	4.70 (0.12)	4.66 (0.06)	4.55 (0.06)	4.63 (0.06)	4.58 (0.08)
SCS	2.46 (0.63)	1.49 (0.60)	2.76 (0.65)	2.82 (0.90)	1.64 (0.63)	2.31 (0.60)	2.46 (0.63)	3.37 (0.90)	2.52 (0.63)	1.80 (0.60)	3.01 (0.65)	1.73 (0.90)
pH	6.77 (0.03)	6.75 (0.03)	6.72 (0.03)	6.76 (0.04)	6.73 (0.03)	6.75 (0.03)	6.72 (0.03)	6.73 (0.04)	6.73 (0.03)	6.74 (0.03)	6.78 (0.03)	6.73 (0.04)
Proprietà coagulanti												
RCT, min	16.30 (1.62)	15.98 (2.12)	17.98 (1.63)	14.46 (2.20)	17.30 (1.56)	16.46 (1.48)	14.56 (1.61)	17.33 (2.52)	16.98 (1.61)	17.92 (1.46)	18.97 (1.58)	18.26 (2.48)
A ₃₀ , mm	28.06 (3.25)	27.22 (4.24)	19.59 (3.33)	22.57 (4.44)	26.17 (3.15)	24.91 (2.99)	29.79 (3.21)	25.80 (5.08)	22.62 (3.09)	20.90 (2.95)	22.02 (3.19)	22.48 (4.99)
K ₂₀ , min	6.72 (0.75)	6.58 (1.12)	7.85 (0.98)	7.36 (1.06)	6.23 (0.97)	6.57 (0.93)	6.43 (0.75)	-	8.21 (0.75)	8.01 (0.97)	7.77 (0.92)	-
Acidi grassi, g/100g di latte												
C14:0	0.33 (0.03)	0.31 (0.03)	0.30 (0.03)	0.25 (0.04)	0.37 (0.03)	0.36 (0.02)	0.36 (0.03)	0.39 (0.04)	0.31 (0.03)	0.32 (0.03)	0.28 (0.03)	0.31 (0.04)
C16:0	0.97 (0.07)	0.88 (0.07)	0.81 (0.07)	0.74 (0.10)	0.94 (0.07)	0.90 (0.06)	0.91 (0.08)	0.99 (0.09)	0.76 (0.07)	0.83 (0.07)	0.76 (0.07)	0.80 (0.10)
C18:0	0.34 (0.04)	0.36 (0.04)	0.31 (0.04)	0.29 (0.06)	0.24 (0.04)	0.24 (0.04)	0.26 (0.05)	0.30 (0.06)	0.23 (0.04)	0.24 (0.04)	0.22 (0.04)	0.25 (0.06)
C18:1	0.92 (0.10)	0.92 (0.09)	0.87 (0.10)	0.79 (0.14)	0.78 (0.09)	0.78 (0.09)	0.82 (0.11)	0.89 (0.13)	0.66 (0.10)	0.68 (0.09)	0.61 (0.10)	0.71 (0.14)
SFA	2.38 (0.23)	2.23 (0.21)	2.15 (0.21)	1.84 (0.32)	2.34 (0.21)	2.26 (0.20)	2.34 (0.22)	2.57 (0.29)	1.65 (0.21)	1.96 (0.20)	1.68 (0.22)	1.88 (0.31)
MUFA	0.89 (0.11)	0.89 (0.10)	0.82 (0.10)	0.76 (0.15)	0.75 (0.10)	0.78 (0.09)	0.78 (0.11)	0.83 (0.14)	0.67 (0.10)	0.68 (0.10)	0.62 (0.10)	0.73 (0.15)
PUFA	0.08 (0.01)	0.09 (0.01)	0.08 (0.01)	0.09 (0.01)	0.07 (0.01)	0.07 (0.01)	0.07 (0.01)	0.09 (0.01)	0.07 (0.01)	0.07 (0.01)	0.06 (0.01)	0.07 (0.01)
SCFA	0.47 (0.05)	0.44 (0.05)	0.43 (0.05)	0.36 (0.07)	0.44 (0.04)	0.42 (0.04)	0.45 (0.05)	0.50 (0.06)	0.29 (0.05)	0.35 (0.04)	0.28 (0.05)	0.32 (0.07)
MCFA	1.44 (0.11)	1.31 (0.10)	1.27 (0.10)	1.10 (0.16)	1.52 (0.10)	1.48 (0.10)	1.49 (0.12)	1.69 (0.14)	1.18 (0.10)	1.35 (0.10)	1.21 (0.11)	1.30 (0.15)
LCFA	1.14 (0.15)	1.14 (0.14)	1.06 (0.14)	0.95 (0.21)	0.89 (0.13)	0.90 (0.13)	0.94 (0.15)	1.04 (0.19)	0.85 (0.14)	0.84 (0.13)	0.70 (0.14)	0.94 (0.20)

¹ECM, latte a correzione energetica; SCS, punteggio delle cellule somatiche; RCT, tempo di coagulazione; A₃₀, consistenza della cagliata a 30 min dall'aggiunta di caglio al latte; K₂₀, tempo di rassodamento della cagliata; SFA, acidi grassi saturi; MUFA, acidi grassi monoinsaturi; PUFA, acidi grassi polinsaturi; SCFA, acidi grassi a catena corta; MCFA, acidi grassi a catena media; LCFA, acidi grassi a catena lunga.

4.2 Caratteri di fertilità

La significatività degli effetti principali è riportata nella tabella 3. I risultati hanno mostrato che il trattamento somministrato non ha avuto un effetto sui tratti di fertilità. Le medie stimate sono riportate nella 4.

Tabella 3- Significatività dei principali effetti fissi considerati nel modello per i tratti di fertilità (giorni).

	Giorni alla prima IA	Days open	Intervallo parto-concepimento
Trattamento	0.700	0.565	0.506
Classi SCC	0.783	0.993	0.974

(AI, inseminazione artificiale; SCC numero di cellule somatiche)

Tabella 4- Medie stimate (errore standard) per Herbs Group (HG) e Placebo Group (PG) per i tratti di fertilità per ogni classe di cellule somatiche (SCC). Non sono state osservate differenze significative.

	SCC basse		SCC alte	
	HG (n=17)	PG (n=20)	HG (n=13)	HG (n=17)
Giorni alla prima IA, giorni	72.00 (1.10)	72.35 (0.98)	71.50 (1.27)	72.14 (1.66)
Days open, giorni	107.18 (15.82)	113.20 (16.60)	106.83 (21.43)	93.75 (26.24)
Intervallo parto-concepimento, giorni	138.53 (9.32)	128.00 (8.50)	136.08 (10.42)	131.20 (16.36)

4.3 Vitamina E plasmatica, profilo metabolico e vitamine del latte A ed E

Solo gli animali con valori relativi al α -tocoferolo plasmatico sono conservati per l'analisi (HG, 30; PG, 27). La significatività degli effetti principali è riportata nella tabella 5. I risultati hanno dimostrato che il trattamento somministrato non ha avuto un effetto sulla vitamina E plasmatica, né sul profilo metabolico degli animali o vitamina E del latte a 30 DIM. Il contenuto plasmatico e la vitamina E del latte non sono correlati ($r = 0,06$; $P = 0,747$). Le medie stimate sono riportate nella tabella 5. Tuttavia, le vacche che ricevono l'HB tendevano a presentare un livello inferiore dei trigliceridi plasmatici (HG, 0.10 ± 0.004 mmol/L; PG, 0.11 ± 0.004 mmol/L; tabella 6). Per quanto riguarda le Classi di SCC, la significatività è stata osservata solo per P^3 (Alto SCC, 1.59 ± 0.06 mmol/L; Basso SCC, 1.82 ± 0.04 mmol/L) e BHB (High SCC, 0.56 ± 0.04 mmol/L; Low SCC, 0.68 ± 0.03 mmol/L), essendo maggiori in quelle vacche con un basso livello di SCC nella precedente lattazione (Tabella 6). Nelle vacche con steatosi epatica subclinica integrate con 20 g di Silymarin/testa/giorno durante il periparto, un livello di glucosio più basso pre-parto e un maggiore contenuto di trigliceridi,

colesterolo totale, alanina aminotransferasi plasmatica e proteine totali fu osservato rispetto al gruppo di controllo (Ulger et al, 2017). A causa della presenza di una soluzione conservante blu nei campioni di latte, la determinazione del contenuto di vitamina A nel latte non era affidabile in quanto il colore ha interferito con entrambi i metodi analitici adottati. In ulteriori esperimenti un'aliquota congelata senza soluzioni conservanti dev'essere immagazzinata per la determinazione della vitamina A.

Tabella 5- Significatività dei principali effetti fissi considerati nel modello per la vitamina E plasmatica, profilo metabolico e vitamina E nel latte.

	Trattamento	Classi di SCC
Milk α -tocoferolo, mg/L	0.739	0.457
α -tocoferolo, mg/L	0.379	0.219
Proteine totali, g/L	0.384	0.757
Albumine, g/L	0.258	0.133
Globuline, g/L	0.944	0.444
Rapporto Albumine/Globuline	0.552	0.293
Urea, mmol/L	0.916	0.380
NEFA, mmol/L	0.326	0.482
Glucosio, mmol/L	0.832	0.290
Colesterolo Totale, mmol/L	0.353	0.187
Trigliceridi, mmol/L	0.085	0.516
AST-GOT, IU/L	0.846	0.568
GGT, IU/L	0.878	0.546
Bilirubina, μ mol/L	0.538	0.142
Creatinasi, IU/L	0.427	0.263
Ca ²⁺ , mmol/L	0.793	0.439
P ³⁻ , mmol/L	0.496	0.004
Mg ²⁺ , mmol/L	0.650	0.359
BHB, mmol/L	0.462	0.032

SCC, numero delle cellule somatiche; NEFA, acidi grassi non esterificati; AST-GOT, aspartato aminotransferasi; GGT, gamma glutamminasi; BHB, acido β -idrossibutirrico

Tabella 6- Medie stimate (errore standard) per il Herbs Group (HG) e il Placebo Group (PG) a 30 DIM per vitamina E plasmatica, profilo metabolico e vitamina E del latte per ogni livello di conteggio delle cellule somatiche (SCC). Non sono state osservate differenze significative.

	Low SCC		High SCC	
	HG (n=17)	PG (n=20)	HG (n=13)	PG (n=7)
Milk α -tocoferolo, mg/L	1.20 (0.20)	1.58 (0.30)	1.47 (0.20)	0.90 (0.43)
α -tocoferolo, mg/L	4.28 (0.33)	4.36 (0.30)	4.22 (0.38)	3.44 (0.52)
Proteine totali, g/L	73.72 (1.17)	72.91 (1.10)	73.52 (1.33)	71.82 (1.96)
Albumine, g/L	33.86 (0.70)	33.83 (0.67)	33.49 (0.81)	31.44 (1.30)
Globuline, g/L	39.86 (1.32)	38.90 (1.22)	40.02 (1.51)	41.22 (2.22)
Rapporto Albumine/Globuline	0.87 (0.04)	0.86 (0.04)	0.84 (0.05)	0.79 (0.07)
Urea, mmol/L	4.26 (0.22)	4.15 (0.20)	3.88 (0.25)	4.05 (0.37)
NEFA, mmol/L	0.30 (0.03)	0.29 (0.03)	0.28 (0.04)	0.37 (0.06)
Glucosio, mmol/L	3.48 (0.08)	3.37 (0.07)	3.25 (0.09)	3.40 (0.13)
Colesterolo Totale, mmol/L	3.89 (0.22)	3.91 (0.21)	3.81 (0.25)	3.28 (0.37)
Trigliceridi, mmol/L	0.11 (0.01)	0.11 (0.01)	0.10 (0.01)	0.12 (0.01)
AST-GOT, IU/L	75.12 (3.93)	75.58 (3.71)	71.69 (4.49)	73.20 (7.24)
GGT, IU/L	26.18 (2.02)	22.95 (1.91)	21.77 (2.31)	24.20 (3.73)
Bilirubina, μ mol/L	1.15 (0.13)	1.10 (0.12)	1.25 (0.15)	1.53 (0.27)
Creatininchinasi, IU/L	161.93 (13.13)	155.45 (11.38)	125.67 (14.69)	156.83 (20.77)
Ca ²⁺ , mmol/L	2.42 (0.03)	2.39 (0.03)	2.35 (0.04)	2.40 (0.06)
P ³⁻ , mmol/L	1.83 (0.06)	1.81 (0.06)	1.63 (0.07)	1.55 (0.10)
Mg ²⁺ , mmol/L	1.13 (0.04)	1.08 (0.03)	1.06 (0.04)	1.07 (0.06)
BHB, mmol/L	0.66 (0.05)	0.70 (0.04)	0.54 (0.05)	0.58 (0.07)

SCC, numero delle cellule somatiche; NEFA, acidi grassi non esterificati; AST-GOT, aspartato aminotransferasi; GGT, gamma glutamminansferasi; BHB, acido β -idrossibutirrico

4.4 Incidenza delle patologie

Delle 72 vacche che a fine studio avevano i campioni di latte nei tre punti di campionamento (30, 70 e 100 DIM), 19 hanno presentato una patologia tra quelle riportate in tabella 7. Per quanto riguarda il gruppo in cui alle vacche sono stati somministrati boli contenenti le 4 erbe (HG), il 27,5 % delle vacche ha presentato endometriosi/metrite e il 2,5% delle vacche ha avuto un caso di mastite. Nel gruppo placebo, invece, il 2,8% delle vacche a presentato endometriosi/ metrite, il 3,1% ha avuto mastite, patologie respiratorie o dislocazione dell'abomaso. Il 6,3 % delle vacche ha riscontrato patologie podali o patologie enteriche (diarrea).

Questi risultati dimostrano l'elevato numero di animali con patologie nel periodo post-parto, tuttavia queste patologie sono leggermente minori nel gruppo di vacche a cui sono stati somministrati i boli contenenti le 4 erbe.

Tabella 7- Incidenza delle patologie negli animali oggetto di prova.

Gruppo	Vacca	Metrite/Endometrite	Mastite	Dislocazione dell'abomaso	Patologia respiratoria	Patologia podale	Patologia enteriche
HG	1	✓					
	2	✓					
	3	✓					
	4	✓					
	5	✓					
	6	✓					
	7	✓					
	8	✓					
	9	✓		✓			
	10	✓					
	11	✓					
PG	1	✓		✓	✓		✓
	2	✓				✓	
	3	✓					✓
	4	✓		✓			
	5	✓					
	6	✓					
	7	✓				✓	
	8	✓					
	9	✓					

5. CONCLUSIONI

In conclusione, l'utilizzo di immunostimolanti non hanno mostrato alcun impatto significativo sulla produzione e composizione di latte. Allo stesso modo la somministrazione di questi composti non ha avuto nessun effetto sui parametri plasmatici o caratteri di fertilità. Inoltre, non è stata osservata una correlazione lineare tra il contenuto plasmatico e di vitamina E nel latte. Tuttavia, i trigliceridi plasmatici tendevano ad essere più bassi nelle vacche che hanno ricevuto il trattamento (HG). Inoltre, l'incidenza delle patologie è stata leggermente minore nelle vacche che hanno ricevuto il trattamento (HG). Va notato che la mancanza di effetto osservata potrebbe essere associata alla dose somministrata o al momento selezionato per valutare il profilo metabolico (30 DIM). In sintesi, sebbene l'uso di boli non abbia mostrato impatti significativi nei parametri studiati, la ricerca suggerisce che ulteriori approfondimenti siano necessari per comprendere appieno l'influenza di tali trattamenti sulla salute e sulle prestazioni delle bovine da latte.

6. BIBLIOGRAFIA

- Loiselle, M. C., C. Ster, B. G. Talbot, X. Zhao, G. F. Wagner, Y. R. Boisclair, and P. Lacasse. 2009. Impact of postpartum milking frequency on the immune system e the blood metabolite concentration of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92: 1900-1912.
- Grummer, R. R., D. G. Mashek, e A. Hayirli. 2004. Dry matter intake e energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Prectice*. 20: 447-470.
- Benedet, A., C. L. Manuelian, A. Zidi, M. Penasa, e M. De Marchi. 2019. Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood e milk e its associations with cow performance. *Animal*: 13, 1676-1689
- Gross, J. J., e R. M. Bruckmaier. 2019. Metabolic challenges in lactating dairy cows e their assessment via established e novel indicators in milk. *Animal* 13: 75-81.
- Megahed, A. A., M. W. Hiew, S. A. El Badawy, e P. D. Constable. 2018. Plasma calcium concentrations are decreased at least 9 hours before parturition in multiparous Holstein-Friesian cattle in a herd fed an acidogenic diet during late gestation. *Journal of Dairy Science*. 101: 1365-1378.
- Overton, T. R., J. A. A. McArt, e D. V. Nydam. 2017. A 100-Year Review: Metabolic health indicators e management of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 100: 10398-10417.
- Mulligan, F. J., e M. L. Doherty. 2008. Production diseases of the transition cow. *Veterinary Jornal*. 176: 3-9.
- Esposito, G., P. C. Irons, E. C. Webb, e A. Chapwanya. 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health e immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 144:60–71.
- Sundrum, A. 2015. Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. *Animals*. 5:978–1020.
- Berge A. C., e G. Vertenten. 2014. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, e fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 97, 2145–2154.

- McArt J. A. A., D. V. Nydam, G. R. Oetzel, T. R. Overton, e P. A. Ospina. 2013. Elevated non-esterified fatty acids e β -hydroxybutyrate e their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 198, 560–570.
- Seifi H. A., S. J. LeBlanc, K. E. Leslie, e T. F. Duffield. 2011. Metabolic predictors of post-partum disease e culling risk in dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 188, 216–220.
- Ruegg P.L., 2017. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, e prevention. *Journal of Dairy Science*, 100, 10381–10397.
- Bradley A. J., 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164, 116-128.
- Heringstad B., G. Klemetsdal, e J. Ruane. 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science*, 64, 95-106.
- DeGaris P.J, e I. J. Lean. 2008. Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology e control principles. *Veterinary Journal*, 176, 58–69.
- Lans, C., N. Turner, T. Khan, G. Brauer, e W. Beopple. 2007. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in British Columbia, Canada. *Journal of Ethnobiology e Ethnomedicine* 2007, 3:11.
- Manayi, A., M. Vizirian, e S. Saeidnia. 2014. Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry e analysis methods. *Pharmacognosy Reviews*, 9:63-73.
- Panaite, T.D., M. Saracila, C. P. Papuc, C.N. Predescu, e C. Soica. 2020. Influence of Dietary Supplementation of Salix alba Bark on Performance, Oxidative Stress Parameters in Liver e Gut Microflora of Broilers. *Animals*, 10, 958.
- Piąteczak, E., M. Dybowska, E. Płuciennik, K. Kośła, J. Kolniak-Ostek, e U. Kalinowska-Lis. Identification e Accumulation of Phenolic Compounds in the Leaves e Bark of Salix alba (L.) e Their Biological Potential. *Biomolecules* 2020, 10, 1391.
- Salekzamani, S., M. Ebrahimi-Mameghani, e K. Rezazadeh. 2019. The antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus*): A systematic review e meta-analysis of animal studies. *Phytotherapy Research*, 33:55-71.
- Nasir, Z., e M. A. Grashorn. 2009. Echinacea: A potential feed e water additive in poultry e swine production. *Archiv für Geflügelkunde* 73 (4). S. 227–236.

- Radko, L., e W. Cybulski. 2007. Application of silymarin in human e animal medicine. *Journal of Pre-Clinical e Clinical Research*, 1(1).
- Franzoi M., C. L. Manuelian M. Penasa, e M. De Marchi. 2020. Effects of somatic cell score on milk yield e mid-infrared predicted composition e technological traits of Brown Swiss, Holstein Friesian, e Simmental cattle breeds. *Journal of Dairy Science*. 103:791-804.
- Manuelian, C. L., M. Penasa, G. Visentin, A. Benedet, M. Cassero, e M. De Marchi. 2019. Multi-breed herd approach to detect breed differences in composition e fatty acid profile of cow milk. *Czech Journal of Animal Science*. 64: 11–16.
- Pierson, M.L. 2007. The use of natural plant extract as a feed additive to prevent laminitis in lactating dairy cows. Master thesis: https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate_thesis_or_dissertations/4t64gr21p
- Salem, A. Z. M., A. E. Kholif, M. M. Y. Elgheour, G. Buendía, M. D. Mariezcurrena, S. R. Hernez, e L. M. Camacho. 2014. Influence of oral administration of *Salix babylonica* extract on milk production e composition in dairy cows, *Italian Journal of Animal Science*, 13:1, 2978.
- Reklewska. B., E. Bernatowicz, Z. Ryniewicz, R. R. Pinto, e K. Zdziarski. 2004. Preliminary observations on the Echinacea-induced lactoferrin production in goat milk. *Animal Science Papers e Reports*, 22:17-25
- Ulger, I., A. C. Onmaz, e T. Ayaşan. 2017. Effects of silymarin (*Silybum marianum*) supplementation on milk e blood parameters of dairy cattle. *South African Journal of Animal Science* 2017, 47.
- Monllor, P., G. Romero, E. Sendra, A. S. Atzori, e J. R. Díaz. 2020. Short-Term effect of the inclusion of silage artichoke by-products in diets of dairy goats on milk quality. *Animals* 2020:339.
- Muelas, R., P. Monllor, G. Romero, E. Sayas-Barberá, C. Navarro, J. R. Díaz, e E. Sendra. 2017. Milk technological properties as affected by including artichoke by-products silages in the diet of dairy goats. *Foods* 2017:112.
- Dymnicka, M., A. Łozicki, M. Koziorowski, J. Klupczyński, J. Miciński, e A. Mścisz. 2004. The effect of *Echinacea purpurea* on the immunological function of the mammary gland of cows during the perinatal period. *J Anim. Feed Sci.*, 13:11-14.

Associazione Italiana Allevatori (AIA). 2020. Bollettino online. Statistiche ufficiali. <http://bollettino.aia.it>. Accesso: 20/12/2023.

Pascottini, O. B., J. L. Leroy, e G. Opsomer. 2020. Metabolic stress in the transition period of dairy cows: Focusing on the prepartum period. *Animals*, 10(8), 1419.

Grünberg 2022. Fatty liver disease of cattle. Merck manual <https://www.merckvetmanual.com/metabolic-disorders/hepatic-lipidosis/fatty-liver-disease-of-cattle>

Gemmi G., E. Ferrari, e C. Maraboli. 2014. Complesso metritr-endometrite. SUMMA Animali da reddito; Formazione a distanza; 1:14

Giuliodori, M. J., R. P. Magnasco, D. Becu-Villalobos, I. M. Lacau-Mengido, C. A. Risco, e R. L. de la Sota. 2013. Metritis in dairy cows: Risk factors e reproductive performance. *Journal of dairy science*, 96(6), 3621-3631.

Smith, B. I., e C. A. Risco. 2002. Predisposing factors e potential causes of postpartum metritis in dairy cattle. *Compendium*.

Zadnik, T. 2003. Review of anterior displacement of the abomasum in cattle in Slovenia. *The Veterinary Record*, 153(1), 24.

González-Martín, J. V., N. Pérez-Villalobos, W. Baumgartner, e S. Astiz. 2019. An investigation into the development of right displaced abomasum by rolling 268 dairy cows with left displaced abomasum. *Journal of dairy science*, 102(12), 11268-11279.

Wiggans G.R, e G.E. Shook. 1987. A lactation measure of somatic cell count. *Journal of dairy science*. 70(12):2666–2672.

Sjaunja, L. O., L. Baevre, L. Junkkarinen, J. Pedersen, e J. Setälä. 1991. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Pages 156–157 in *Performance Recording of Animals—State of the Art 1990*. EAAP Publication 50. P. Gaillon e Y. Chabert, ed. Centre for Agricultural Publishing e Documentation (PUDOC), Wageningen, the Netherlands

Calderón, F., B. Chauveau-Duriot, P. Pradel, B. Martin, B. Graulet, M., Doreau, e P. Nozière. 2007. Variations in carotenoids, vitamins A e E, e color in cow's plasma e milk following a shift from hay diet to diets containing increasing levels of carotenoids e vitamin E. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5651-5664.

Prache, S., A. Priolo, H. Tournadre, R. Jailler, H. Dubroeuq, D. Micol, e B. Martin. 2002. Traceability of grass-feeding by quantifying the signature of carotenoid pigments in herbivores meat, milk e cheese. Multi-function grassles: quality forages, animal products e lescapes. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassle Federation, La Rochelle, France, 27-30 May 2002, pp.592-593

7. RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il progetto Organic-PLUS, “Pathways to phase-out contentious inputs from organic agriculture in Europe” (grant agreement N. 774340) di cui il presente elaborato ne fa parte, e la società agricola Zilio Benedetto & Vittorio in cui è stata svolta la prova sperimentale.