

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTÀ DI AGRARIA  
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

TESI DI LAUREA

## IPOTESI DI APPROCCIO ZOOECOLOGICO NELL'ALIMENTAZIONE DEI RUMINANTI PER LA PREVENZIONE ED IL CONTROLLO DEI DISTURBI FERMENTATIVI

RELATORE: CH.MO PROF. MASSIMO MORGANTE  
CORRELATORE: DOTT. MATTEO GIANESELLA

LAUREANDO: PIERLUIGI VEZZARO  
MATRICOLA N. 55545/STN

ANNO ACCADEMICO: 2008/2009



## INDICE

1. PREMESSA.....	3
2. INTRODUZIONE.....	4
2.1 Anatomia del ruminante.....	4
2.2 Fisiologia del ruminante.....	5
2.2.1 <u>Motilità del ruminante</u> .....	5
2.2.2 <u>Ruminazione</u> .....	6
2.2.3 <u>Salivazione</u> .....	6
2.2.4 <u>Innervazione prestomacale</u> .....	7
2.3 Microbiologia del ruminante.....	9
2.3.1 <u>Micropopolazione ruminale</u> .....	11
2.4 Principali disturbi fermentativi del bovino in allevamento.....	16
2.4.1 <u>Acidosi ruminale</u> .....	16
<b>2.4.1.1 Eziologia</b> .....	16
<b>2.4.1.2 Patogenesi</b> .....	18
<b>2.4.1.3 Sintomi</b> .....	19
2.4.2 <u>Alcalosi ruminale</u> .....	20
2.5 Generalità e attitudine fermentativa dei carboidrati nell'alimentazione dei ruminanti.....	21
2.5.1 <u>Zuccheri</u> .....	22
2.5.2 <u>Amido</u> .....	23
2.5.3 <u>Fibra</u> .....	24
<b>2.5.3.1 Cellulosa</b> .....	24
<b>2.5.3.2 Emicellulosa</b> .....	26
<b>2.5.3.3 Fibra solubile</b> .....	26
<b>2.5.3.4 Pectina</b> .....	26
<b>2.5.3.5 <math>\beta</math>-glucani</b> .....	27
<b>2.5.3.6 Azione della lignina sui carboidrati strutturali</b> .....	27
2.6 Caratteristiche dell'erba.....	29
2.6.1 <u>Generalità</u> .....	29
2.6.2 <u>Analisi della composizione nutrizionale dell'erba</u> .....	30
2.6.3 <u>Componenti dell'erba con funzionalità nutraceutica nei riguardi dei disturbi fermentativi</u> .....	31
<b>2.6.3.1 Acido citrico</b> .....	31
<b>2.6.3.2 Acido malico</b> .....	32



2.6.3.2.1	<i>La relazione tra la concentrazione nel ruminale di Sodio e l'utilizzazione del malato</i> .....	32
2.6.3.2.2	<i>La funzione del malato nei confronti del S. ruminantium</i> .....	33
2.6.3.2.3	<i>Utilizzo del malato nella cura dell'acidosi ruminale</i> .....	33
<b>2.6.3.3</b>	<b>Fruttani</b> .....	35
<b>2.6.3.4</b>	<b>Oli essenziali e tannini</b> .....	39
2.6.3.4.1	<i>Oli essenziali</i> .....	39
2.6.3.4.2	<i>Tannini</i> .....	43
<b>2.6.3.5</b>	<b>Pigmenti fotosintetici</b> .....	47
2.7	Excursus zoologico della specie bovina .....	48
2.7.1	<u>Dagli albori della civiltà umana alla metà del XX secolo</u> .....	49
2.7.2	<u>Dalla metà del XX secolo ad oggi</u> .....	50
2.8	Breve nota sul comportamento alimentare della specie bovina al pascolo.....	52
2.9	Differenze nutritive tra il foraggio verde e conservato.....	53
2.9.1	<u>Quali nutrienti vanno persi con la conservazione?</u> .....	53
2.9.2	<u>Perdite da conservazione e modificazione qualitativa del fieno</u> .....	54
2.9.3	<u>Perdite da conservazione e modificazione qualitativa dell'insilato</u> .....	54
2.10	Aspetti nutrizionali del silomais.....	57
3.	DISCUSSIONE.....	58
3.1	Biodiversità.....	58
3.2	Le motivazioni di un approccio zoologico nella terapia dei disturbi fermentativi.....	59
3.3	La fibra nell'alimentazione dei bovini.....	61
3.4	Il ruolo fondamentale del comportamento alimentare nell'eziologia dei disturbi fermentativi.....	64
3.5	Il foraggiamento verde.....	65
3.6	Il silomais come base foraggera: ripercussioni sulle dismetabolie.....	67
3.7	I tannini scongiurano l'alcalosi ruminale nella specie bovina al pascolo.....	69
4.	CONCLUSIONI.....	70
5.	BIBLIOGRAFIA.....	71



## 1. PREMESSA

La domesticazione comporta una logica sottomissione dell'animale ad esigenze dell'uomo. L'uomo alleva animali con lo scopo di ricavarne prodotti alimentari e non, vendibili per trarre profitto. Nel corso della storia, l'allevatore ha sempre cercato nuove tecniche e nuove tecnologie sempre pur mantenendo invariato l'obiettivo: mantenere e casomai, aumentare la redditività dell'allevamento. Pertanto la tecnica di allevamento del bestiame è una realtà dinamica in cui convivono pratiche tradizionali e pratiche più o meno innovative. Il risultato dell'interazione tra fattori ambientali e genetici che contraddistinguono l'animale allevato è controllato dalla mano dell'uomo. L'allevatore influenza i fattori intrinseci (componente genetica) ed estrinseci (componente ambientale) dell'animale allevato ma non agisce sulla sostanziale natura dell'animale. Possiamo con certezza affermare che sebbene le innumerevoli tecniche e tecnologie inerenti all'allevamento dell'animale utilizzate dall'uomo, il complesso anatomo-fisiologico, tratto distintivo di qualsiasi organismo vivente sia animale che vegetale non viene modificato.

La seguente tesi verte sulla specie bovina, che rappresenta in ambito ecologico una nicchia unica nel suo genere, per via della caratteristica abilità a degradare e utilizzare i carboidrati strutturali, descrive il foraggio verde in merito alla possibilità di prevenire o curare le dismetabolie più frequenti in allevamento, con lo scopo di relazionare la presenza di disturbi fermentativi in allevamento. Inoltre, prende in esame la forte discordanza tra la dieta tipica del bovino in natura e del bovino di allevamento.



## 2.INTRODUZIONE

Questo capitolo tratta una serie di fattori necessari per descrivere un approccio zoecologico all'alimentazione dei ruminanti per la prevenzione ed il controllo dei disturbi fermentativi. Questo approccio, verrà preso in analisi sotto vari punti di osservazione nel capitolo della discussione.

### 2.1 ANATOMIA DEL RUMINE

Il rumine è un voluminoso sacco (il rumine da solo può contenere da 120-200 L) che occupa la metà sinistra e quasi tutta la parte ventrale della cavità addominale. Presenta una faccia parietale, in rapporto con la parete addominale sinistra e ventrale, e una faccia viscerale, in rapporto con l'intestino prevalentemente, con il fegato, l'omaso e l'abomaso. Ha inoltre una curvatura dorsale e una curvatura ventrale. Due solchi longitudinali, solco longitudinale destro e solco longitudinale sinistro, sono tra loro uniti cranialmente e caudalmente da due profondi solchi trasversi, il solco craniale ed il solco caudale. Origina in questo modo, un grande solco anulare quasi orizzontale, che divide l'organo in un sacco dorsale e in un sacco ventrale del rumine. Inoltre, dei solchi secondari, accessori e coronari, delimitano diverse aree del rumine. Ai solchi, corrispondono internamente al rumine, grosse trabecole muscolari dette pilastri del rumine. La mucosa del rumine è priva di ghiandole e possiede un epitelio pavimentoso pluristratificato, corneificato, duro, che nei vitelli in un primo tempo è di colore chiaro, mentre negli animali in età più avanzata diventa di colore giallo-verde, bruno scuro in quanto lo strato corneo si impregna di materiale vegetale colorato e di acido tannico. La mucosa presenta papille coniche, fittamente addensate, che conferiscono alla superficie interna del rumine il suo caratteristico aspetto; sono particolarmente sviluppate nel sacco ventrale, nei sacchi ciechi caudali ed in modo particolare nell'atrio, mentre sono assenti nel sacco dorsale (Bortolami et al., 1982; Aguggini et al., 1998). Le papille, oltre a favorire il rimescolamento del contenuto ruminale, hanno la funzione di assorbire i prodotti di fermentazione dell'attività batterica, protozoaria e fungina, in primo luogo gli acidi grassi volatili (Nickel et al., 1979).



## 2.2 FISILOGIA DEL RUMINE

Il rumine è un organo paragonabile ad un grande fermentatore. Grande perché è capace di contenere grandi quantità di alimento ingerito. Detto fermentatore per via dell'ambiente anaerobico in cui convivono numerose popolazioni di natura batterica, protozoaria e fungina che degradano l'alimento ingerito e sintetizzano nuovi composti come proteine, amminoacidi e vitamine attraverso numerosissime fermentazioni. Questo grosso sacco può mantenere determinate caratteristiche chimiche (condizioni di anaerobiosi, pH 6-7, potere tampone), e fisiche (temperatura tra 38,5 e 39,) in grado di favorire la crescita microbica di numerose specie microbiche che producono nutrimento sottoforma prevalente di acidi grassi volatili quali l'acido acetico, l'acido propionico e l'acido butirrico (Mariani e Podestà, 1996).

Nei prossimi paragrafi vengono descritti gli eventi fisiologici più importanti e caratteristici del rumine del bovino.

### 2.2.1 Motilità del rumine

In condizioni fisiologiche, il rumine manifesta una motilità continua ciclizzata, caratterizzata da una successione ordinata e ritmica di contrazioni che ricorrono ad intervalli di un minuto circa, almeno negli Ovini e nei Bovini. Dal reticolo, si propagano con andamento cranio caudale, coinvolgendo in successione, l'atrio, il sacco dorsale e il sacco ventrale del rumine. Questo ciclo motorio che si completa in 15-30 secondi, in funzione del grado di ripienezza dell'apparato, è contraddistinto sempre da un'iniziale contrazione bifasica del reticolo. È definito ciclo primario per differenziarlo dal ciclo secondario.

Le contrazioni del ciclo primario prevedono la contrazione in 2 tempi del reticolo per la separazione del materiale più grossolano da quello più finemente elaborato e di convogliare quest'ultimo verso l'omaso-abomaso.

Le contrazioni del ciclo secondario contribuiscono al rimescolamento del contenuto dei 2 sacchi del rumine, ma principalmente spingono la massa di anidride carbonica e metano che occupa la cupola del sacco dorsale da cui prenderà origine il fenomeno dell'eruttazione (l'eliminazione dei gas di fermentazione), indotto per mezzo di terminazioni nervose dalla presenza di gas ruminali (Bortolami et al., 1982).



### 2.2.2 Ruminazione

La ruminazione viene associata a tutti quegli eventi meccanici della digestione del ruminante che avvengono in associazione con il procedimento esteriormente visibile della rimasticazione. Come l'eruttazione, la ruminazione costituisce un altro aspetto particolare del comportamento alimentare del ruminante ed è un fenomeno riflesso che il poligastrico attiva per influenzare l'entità dei processi fermentativi in sede prestomacale. L'atto normale della ruminazione comprende una serie di fenomeni:

- fase aspiratoria e fase espulsiva che permettono l'entrata del bolo alimentare (il boccone di alimento proveniente dal rumine e dal reticolo) nella cavità orale;
- masticazione mericica del bolo alimentare grossolano pervenuto in cavità orale con le precedenti fasi, aspiratoria ed espulsiva abbinata da abbondante insalivazione, che permette una più efficiente triturazione del bolo alimentare da parte delle tavole dei denti molari;
- deglutizione del bolo mericico con cui si conclude il ciclo ruminativo.

Il bolo mericico che risulta dalla masticazione è composto da una parte alimentare finemente triturata e abbondantemente insalivata. Questo bolo di elevato peso specifico si deposita nel sacco ventrale (Bortolami et al., 1982).

### 2.2.3 Salivazione

La salivazione è un evento fisiologico che avviene nella cavità orale ma possiede numerose relazioni con la fisiologia del rumine. Avviene con la secrezione di saliva nella cavità orale dalle ghiandole salivari. La saliva è un liquido incolore, leggermente opalescente a reazione alcalina (pH 8,2). La composizione della saliva è variabile in base alle ghiandole che la producono, ecco le componenti principali nel caso dei ruminanti:

- circa l'1% in elettroliti rappresentati essenzialmente in primo luogo bicarbonati, in secondo piano fosfati, cloruri e proteine;
- tracce di cellule di desquamazione della mucosa orale e linfociti (corpuscoli salivari);
- circa il 99% in acqua;
- tracce di lisozima, fattore capace di dissolvere i batteri.

Il significato fisiologico della saliva è molteplice:

- svolge un'azione protettiva del cavo orale, impedendo l'essiccamento della mucosa;
- facilita la masticazione e la deglutizione degli alimenti ingeriti;
- esercita un'azione estrattiva sulle sostanze idrosolubili presenti negli alimenti stessi, favorendo la percezione gustativa;



- regola il grado di acidità che esiste nell'ambito prestomacale con azione alcalinizzante (Bortolami et al., 1982).

La produzione di saliva varia in ragione del tipo di presentazione fisica dell'alimento ed influenza significativamente il volume del liquido ruminale, dal momento che in un bovino, la sua produzione giornaliera può raggiungere i 200 litri. (Mariani e Podestà, 1996).

La produzione di saliva è influenzata dall'alimentazione come indicato nella seguente tabella.

**Tabella 1. Produzione di saliva in bovini che assumono diversi tipi di alimento (Mariani e Podestà, 1996).**

ALIMENTO	PRODUZIONE DI SALIVA (g/g di alimento)	VELOCITÀ DI ASSUNZIONE DEL CIBO (g/ min)
Pellettato	0,68	243-357
Insilati	1,13	248-280
Fieno	3,63	250-270
Erba fresca	3,25	270-283

Meyer et al. (1964) indica una relazione tra contenuto d'acqua del cibo e quantità di saliva prodotta dall'animale: all'aumentare del contenuto d'acqua dell'alimento diminuisce la produzione di saliva.

#### 2.2.4 Innervazione prestomacale

La ruminazione è il risultato di un complesso fenomeno riflesso non ancora del tutto spiegato.

I fisiologi sono in accordo nel sostenere che il ritmo, l'intensità, la frequenza di ruminazione siano sotto regolazione di una complessa innervazione che coinvolge l'intero rumine, dotata di recettività e in grado di trasmettere informazioni al sistema nervoso centrale (Bortolami et al., 1982; Aguggini et al., 1998).

In accordo con Bortolami et al. (1982) sappiamo che l'attività motoria del rumine richiede capacità motorie repentine e cicliche (contrazioni estrinseche), capacità di adattamento continuo del tono della loro muscolatura liscia, in particolare degli sfinteri cardiaco e reticolo-omasale (contrazioni intrinseche). Le prime sono di natura eminentemente riflessa ed il controllo effettuato dalle afferenze ed efferenze vagali e dai centri gastrici sono fondamentali per il loro corretto estrinsecarsi. Le seconde dipendono, dall'attività di una serie di strutture nervose intramurali (plesso sottomucoso di Meissner, plesso mioenterico di Auerbach e fibre intraparietali che li connettono) necessarie per modulare gli eventi contrattili delle cellule muscolari lisce prestomacali e che nel loro assieme costituiscono il Sistema Nervoso Enterico (SNE). Tale sistema si può considerare come una parte





peculiare del Sistema Nervoso Autonomo (SNA). Le fibre afferenti postgangliari del SNA sono destinate a prendere rapporto con le cellule muscolari lisce di detto apparato.

Nella muscolatura liscia dei prestomaci sono stati dimostrati due canali per lo ione calcio: l'uno che si attiva a seguito di variazioni del potenziale transmembranario, l'altro per azione di specifici ligandi per i recettori di membrana. Il primo meccanismo sarebbe responsabile dell'insorgenza delle contrazioni fasiche; il secondo delle variazioni di tono. Le contrazioni fasiche, sono implicate nella regolazione del transito e del rimescolamento delle ingesta, mentre le contrazioni toniche sono implicate nella regolazione della funzione di serbatoio e nella regolazione degli sfinteri (Aguggini et al., 1998).

La frequenza, l'ampiezza e la durata delle contrazioni dei cicli primari sono la risultante della somma algebrica degli impulsi eccitatori ed inibitori, che continuamente incidono sui centri stessi.

Gli impulsi sensitivi eccitatori si originano da recettori presenti nel reticolo, e nella porzione craniale del sacco dorsale del rumine, da recettori di acidità dell'abomaso, oltre a meccanicocettori e probabilmente chemiocettori presenti nella mucosa orale.

Gli impulsi sensitivi inibitori provengono essenzialmente da recettori epiteliali, da tensocettori dell'abomaso e da recettori dolorifici aspecifici localizzati in qualsiasi parte del corpo.

Per la loro modalità di attivazione vengono considerati dei meccanicocettori a rapido adattamento, ma reagiscono anche a determinati stimoli chimici (ad es. concentrazione degli acidi grassi volatili in forma indissociata nel rumine. Le loro risposte sono di tipo "on-off", per stimolazioni meccaniche di entità modesta, ma se lo stimolo è energico possono produrre scariche persistenti.

La stimolazione dei recettori epiteliali del distretto reticolo-ruminale opera da "input" inibitorio a livello dei centri gastrici e riduce in via riflessa la motilità dei cicli primari.

La reattività dei recettori epiteliali agli stimoli chimici si osserva sperimentalmente con l'infusione di acidi nel rumine o insorge in condizioni patologiche quali l'acidosi ruminale (accumulo di acido lattico). Gli stessi recettori sono implicati anche in altre condizioni patologiche come il meteorismo (Bortolami et al., 1982).

L'innervazione prestomacale viene coinvolta frequentemente nei disturbi fermentativi dei ruminanti per la fondamentale funzione di coordinamento della motilità della muscolatura liscia (Aguggini et al., 1998).



## 2.3 MICROBIOLOGIA DEL RUMINE

Per la digestione dei ruminanti riveste particolare importanza la popolazione microbica del rumine, composta in ordine di quantità in primis da batteri, e poi in quantità minori da protozoi e funghi. Ogni specie microbica in ragione delle proprie caratteristiche cellulari svolge attività metaboliche specifiche influenzate da fattori ambientali e fattori intrinseci quali le caratteristiche genetiche. Le caratteristiche fisico-chimiche dell'ambiente ruminale tra le quali il pH, vanno a selezionare le popolazioni microbiche.

Tra le popolazioni microbiche si instaurano tutte le tipologie di relazione della vita comunitaria fra specie monocellulari:

- Competizione: due specie microbiche sono dipendenti dallo stesso substrato;
- Neutralismo: due specie coesistono senza influenzarsi reciprocamente;
- Commensalismo: la crescita di una specie dipende dall'altra senza che quest'ultima sia influenzata dalla prima;
- Parassitismo: una specie cellulare sfrutta risorse rese disponibili da un'altra specie senza fornire a questa alcun corrispettivo;
- Sintropismo: attività metaboliche indipendenti concorrono ad un risultato utile per le specie interessate;
- Predazione: attività di fagocitosi cellulare da parte di una specie ai danni di una o più specie (Mariani e Podestà, 1994).

Il fenomeno che ne risulta, sottoposto alla continua influenza di fattori dietetici, ambientali, e condizionato dalla fisiologia animale, è così complesso che fino ad oggi tutti i tentativi di fornirne una descrizione sistematica ed esauriente sono falliti.

Le popolazioni ruminali intervengono nell'ambiente ruminale con numerose attività biologiche quali:

- fermentazione di sostanze normalmente non digeribili, in quanto i ruminanti non dispongono degli enzimi adatti per la loro degradazione: in particolare, cellulosa ed emicellulose, polimeri del glucosio legato in posizione  $\beta$  (legame  $\beta$ -glicosidico) anziché  $\alpha$ , demolibile dalla  $\beta$ -glicosidasi posseduta solo da alcuni microrganismi;
- fermentazione degli amidi, che altrimenti non sarebbero utilizzabili, in quanto la bassa concentrazione di ptialina nella saliva dei ruminanti non ne permette la degradazione. Al termine del processo fermentativo a carico dei glucidi, si ottengono acidi grassi (succinico, propionico, acetico, butirrico e formico), mentre non ci sono tracce di

cellobiosio né di glucosio, in quanto le condizioni di microaerofilia del rumine condizionano la completa fermentazione di questi prodotti intermedi di degradazione. Gli acidi acetico, propionico e butirrico vengono assorbiti direttamente dalle pareti ruminali, mentre gli acidi formico e succinico possono essere degradati da altri batteri, sino a ottenerne la demolizione totale o parziale in gas;

- sintesi di vitamine: i microrganismi del rumine possono sintetizzare tutte le vitamine del gruppo B, ovviamente se nella razione non mancano i microelementi necessari alla loro sintesi (es., il cobalto per la vitamina B12);
- trasformazione di proteine a basso valore biologico in proteine a valore biologico elevato (quelle del protoplasma batterico e protozoiario);
- possibilità di utilizzare, in parte, sostanze azotate di natura non proteica (es. l'urea).

Le fermentazioni sono rese possibili dalle particolari condizioni chimico-fisiche del rumine, qualsiasi modificazione di tali condizioni può alterare, in modo più o meno evidente, la composizione della flora microbica e il corretto svolgimento delle fermentazioni stesse.

In condizioni fisiologiche, la pressione osmotica è simile a quella del sangue e il pH è compreso fra 5.5 e 7. Il mantenimento del pH entro questo range è assicurato da 3 meccanismi fondamentali:

- un più rapido assorbimento di AGV, quando questi vengono prodotti in forte quantità;
- una maggiore introduzione di saliva in corrispondenza dei pasti e durante la ruminazione, che fornisce  $\text{NaHCO}_3$  e fosfati quando si ha la maggior produzione di acidità;
- la presenza di metaboliti basici derivati dalla proteolisi.

Con l'alimentazione di tipo tradizionale (2 pasti al giorno, somministrati, in genere, in coincidenza con la mungitura), il pH subisce, nell'arco della giornata, notevoli oscillazioni, che alterano a loro volta l'equilibrio fra le varie popolazioni microbiche. Tali oscillazioni sono notevolmente ridotte con 14 pasti giornalieri: ciò è riscontrabile nella condizione naturale di pascolo oppure in alimentazione con metodo "unifeed".

La temperatura si aggira attorno ai 39-40°C ed è ottimale per la crescita sia dei batteri che dei protozoi. Nel gas ruminale sono presenti tracce di ossigeno, derivato dall'aria inghiottita con gli alimenti. In sostanza però, all'interno della massa ruminale vi sono condizioni di anaerobiosi, in quanto l'ossigeno viene immediatamente ridotto non appena vi penetra.

La flora batterica ruminale è costituita da:

- specie funzionali che vivono in completa simbiosi con l'ospite;
- specie potenzialmente dannose, solitamente presenti in numero insignificante, ma in grado di moltiplicarsi in condizioni anormali;



- microrganismi non patogeni introdotti accidentalmente e che possono poi sopravvivere senza interferire con la flora residente (Poli e Cocilovo, 1996).

### 2.3.1 Micropopolazione ruminale

#### *Batteri*

Sono in maggioranza gram negativi, strettamente anaerobi (l'ambiente anaerobio è garantito dalla bolla gassosa del rumine) (Gianesella, 2005). Rappresentano la maggior parte dei microrganismi ruminali e sono molto diversificati. Ne sono state isolate oltre 200 specie presenti nel rumine con una concentrazione complessiva tra  $10^9$  e  $10^{12}$  /ml, ma solo 20 sono presenti in quantità superiore a  $10^6$ /ml (Mc Allister, 2000).

In accordo con Hungate (1966) è possibile classificare i batteri ruminali in base alla loro attività metabolica principale ed al substrato energetico da essi maggiormente utilizzato:

1. Cellulosolitici: adibiti alla digestione della cellulosa, il loro pH ottimale è compreso tra 6 e 6,8. Scindono il legame  $\beta$ -glicosidico della cellulosa, producendo prima cellulodestrina, poi cellobiosio e poi due molecole di glucosio. Il glucosio viene ulteriormente elaborato a fruttosio 1-6 difosfato. Le specie più importanti sono: *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Cilliobacterium cellulosolvens*, *Clostridium longisporum*, *Clostridium lochheadii*.
2. Amilolitici: adibiti alla digestione dell'amido, il loro pH ottimale è compreso tra 5,5 e 6. Le specie più rappresentative sono: *Streptococcus bovis*, *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola*, *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Succinomonas amylolitica*, *Selenomonas ruminantium*.
3. Lattici: le specie di batteri lattici maggiormente presenti sono: *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Eubacterium ruminantium*.
4. Lattico utilizzatori: *Veilonella alcalescens*, *Peptostreptococcus elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*, *Sreptococcus bovis*
5. Pectinolitici: il più rappresentativo è *Bacillus polymixa*
6. Lipolitici: il più importante è *Anaerovibrio lipolytica*. Fermentano i galattegliceridi della serie linoleica producendo glicerolo, galattosio, basi azotate, fosfati e steroli, convertono gli acidi grassi insaturi in saturi.
7. Proteolitici: si tratta dei generi *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Succinivibrio* e *Selenomonas*. Idrolizzano le proteine introdotte con la dieta producendo aminoacidi e peptici che possono essere ulteriormente degradati a  $CO_2$ , AGV,  $NH_3$  o incorporati in proteina batterica. L'



NH<sub>3</sub> in eccesso, attraversa la parete ruminale e arriva al fegato dove viene eliminata come urea, oppure viene riutilizzata attraverso la saliva, mediante il ciclo dell'urea, che permette l'ottimizzazione dell'uso dell'azoto.

7. Metanosici: *Methanobacterium formicicum*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanospirillum hungatei*. Attaccano acidi e alcoli (no zuccheri), per ricavare idrogeno con cui riducono la CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub>.

Si può affermare che il pH ottimale per la crescita microbica a livello ruminale è pari circa a 6, condizione che permette il giusto equilibrio tra i vari AGV prodotti.

Il fattore limitante della crescita batterica è la disponibilità di energia e la capacità dei batteri di produrre ATP da ogni singolo zucchero. I batteri a crescita lenta (cellulosolitici), hanno un'elevata efficienza di trasformazione dei substrati ma in tempi lunghi; mentre, i batteri a crescita veloce (amilolitici), producono maggiori quantità di ATP, con minor efficienza ed in minor tempo. Diventa intuibile quindi che, in presenza di carboidrati facilmente fermentescibili, sono favorite le specie a crescita rapida (Poli e Cocilovo, 1996).

Questo tipo di classificazione, seppure utile, non è scevro da limitazioni poiché, mentre alcune specie (*Anaerovibrio lipolytica*, *Veillonella alcalescens*, *Bacteroides amylophilus*) utilizzano un unico tipo di fonte energetica, altre invece (*Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium locheaerii*, *Selenomonas ruminantium*) sono in grado di svolgere più di una delle funzioni sopra descritte.

Nonostante sia impossibile gerarchizzare in modo razionale le funzioni esercitate dai diversi batteri ruminali, le specie microbiche possono essere ripartite schematicamente, ed in modo più generale, in quattro gruppi, in riferimento all'attività dominante in relazione al solo metabolismo ossidativo (Mariani e Podestà, 1996):

- Primo gruppo (degradativo). Comprende batteri che si fissano sulle fibre vegetali e depolimerizzano i polisaccaridi o l'amido in molecole più semplici come il cellobiosio, il maltosio, il saccarosio, il xilobiosio. Fra questi *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* ed anche protozoi e miceti.
- Secondo gruppo (fermentativo). Include batteri in grado di fermentare glucidi, convertendoli in acidi grassi a corta catena come acetato, propionato e butirato, o a CO<sub>2</sub> ed H<sub>2</sub>. Altri cataboliti del metabolismo fermentativo dei glucidi, come etanolo, succinato, lattato normalmente non si accumulano nel rumine, ma sono catabolizzati appena formati. La CO<sub>2</sub> è in parte ridotta a metano attraverso i batteri metanogeni.
- Terzo gruppo (azoto-fissatore). Riunisce batteri che possono degradare i substrati azotati per formare oltre ad acetato, acidi grassi a catena ramificata e NH<sub>3</sub>, indispensabili per la

sintesi ex novo di altri amminoacidi e, conseguentemente, per la crescita cellulare. Fra questi, oltre a microrganismi appartenenti anche ai 2 gruppi precedenti, come *Butivibrio fibrisolvens* e *Streptococcus bovis*, si trovano *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola* e *Selenomonas ruminantium*.

- Quarto gruppo (metanogenetico). È costituito dai batteri metanogeni, produttori di metano un composto che dispone di energia chimica utilizzabile però attraverso la combustione e ad opera di alcuni batteri che però non sono presenti nel rumine. Pertanto nell'economia energetica dell'animale rimane una perdita energetica che può raggiungere il 10-14% dell'energia degli alimenti.

### *Protozoi* ( $10^5$ - $10^6$ /ml)

I protozoi costituiscono la fauna del rumine. La maggior parte dei protozoi ruminali è costituita da ciliati, ma si possono trovare anche in minor misura i flagellati. Come i batteri, anche i protozoi vivono liberi nella fase liquida ruminale oppure attaccati alle particelle alimentari o alla parete del rumine, e sono coinvolti nel metabolismo degradativo e fermentativo ruminale. I ciliati nel rumine sono in un numero di  $10^5$  –  $10^6$  alla ottava cellule/mL. La loro densità varia in funzione della dieta, del tempo di ritenzione del cibo nel rumine. Il numero massimo di protozoi si raggiunge con una dieta ricca di fibre, mentre con una dieta a base di concentrati il numero di protozoi diminuisce, fino alla scomparsa di alcune specie.

La quantità di protozoi nella fase liquida ruminale varia giornalmente, in risposta alla disponibilità di glucidi solubili.

Prima del pasto, la concentrazione di protozoi nel rumine è minima; dal momento del pasto fino a 40 minuti dopo, aumenta di circa 9 volte, iniziando a diminuire dopo 4 ore, per tornare ai valori di partenza dopo 6-8 ore. La maggior parte dei protozoi ruminali è costituita da ciliati, ma si trovano in minor misura anche i flagellati.

I protozoi vivono nel rumine grazie alla predazione di batteri e zoospore fungine. La predazione non è né selettiva né specifica, ma avviene con criteri casuali e con un'intensità che dipende dalle concentrazioni batterica e fungina. In particolari condizioni alimentari (diete a base di concentrati misti o solo fieno), i protozoi, con il ridursi delle popolazioni batterica e fungina, giungono ad esercitare una reciproca azione fagocitaria.

La concentrazione di  $\text{NH}_3$  ruminale in ruminanti faunati (nei quali è rappresentata la popolazione dei protozoi) rispetto a quella dei defaunati (in cui i protozoi sono stati eliminati usando razioni ricche ad libitum di cereali o con agenti chimici) è considerevolmente superiore in ragione di un'aumentata degradazione proteica ed utilizzazione delle catene carboniose degli amminoacidi, nonché del



prolungato tempo di ritenzione dell'alimento nel rumine. Con la defaunazione del rumine si osserva un aumento del flusso di composti azotati nel duodeno. Tuttavia, le proteine protozoarie sono caratterizzate da una migliore digeribilità rispetto a quelle batteriche e da un valore nutritivo notevole, per la presenza nel loro pool amminoacidico di elevate concentrazioni di lisina.

Un ulteriore effetto indesiderabile, legato ai protozoi, è quello derivato dalla compressione sull'accrescimento batterico a seguito della loro attività predatoria e al loro consumo di energia. Tuttavia, i protozoi ruminali concorrono alla digeribilità dei costituenti lignocellulosici della parete vegetale, perché hanno un'intensa attività degradativa nei confronti di alcuni polisaccaridi vegetali (Mariani e Podestà, 1994). I protozoi ruminali svolgono un ruolo protettivo nei confronti dello sviluppo di un'acidosi lattica del rumine grazie all'attività di fagocitosi dell'amido che sottrae alla fase liquida del rumine un substrato per i batteri lattogenetici, ritardando la fermentazione dell'amido da parte dei batteri, la produzione di acidi e stabilizzando le fermentazioni ruminali (Slyter, 1976; Nagaraja et al., 1990).

In loro assenza, infatti la crescita batterica non controllata porta a variazioni tanto considerevoli delle condizioni fisico-chimiche del rumine, da risultare pregiudizievoli per la sopravvivenza degli stessi batteri. Le sperimentazioni basate sul confronto delle performance ottenute da animali defaunati e faunati hanno dato risultati contraddittori, per via della notevole complessità delle interazioni tra le specie microbiche e protozoarie nel rumine.

In quanto alla numerosità, sono la seconda popolazione presente nel rumine; in genere la loro quantità è inversamente proporzionale a quella dei batteri. Ne sono state isolate oltre 100 specie. I più rappresentativi sono: *Isotricha prostoma*, *Dasytricha ruminantium*, *Entodinium* e *Diplodinium*. Digeriscono la fibra per circa 1/3, 1/4 del totale. Essendo molto sensibili anche alle minime variazioni di pH (il loro optimum è 6), risentono immediatamente degli stati di acidosi, scomparendo non appena il pH diventa critico per la loro sopravvivenza (Mc Allister, 2000).

#### *Miceti* ( $10^3$ - $10^4$ /ml)

I funghi anaerobi appartengono alla classe dei Chitridiomycetes e sia il loro numero che le specie variano in funzione del tipo di pasto dato all'animale. Tra le varie specie quelle che si devono considerare più comuni sono: *Neocalimastix patriciarum*, *Anaeromyces microsporus* e *Orpinomyces bovis*. I miceti anaerobi ruminali come i batteri e i protozoi sono coinvolti nel metabolismo degradativo e fermentativo del rumine, sono in grado di attaccare e degradare i tessuti lignocellulosici vegetali (Mc Allister, 2000), che in assenza dei miceti passerebbero indigerite nelle feci.



I miceti instaurano con i batteri metanogeni una simbiosi mutualistica. I miceti ricavano dai batteri un aumento della velocità di idrolisi della cellulosa dei tessuti vegetali, che rendendo disponibile glucosio solubile favoriscono il benessere e la proliferazione fungina. A loro volta, i metanogeni sfruttano l'idrogeno prodotto negli idrogenosomi posseduti anche da queste specie cellulari per produrre metano (Mariani e Podestà, 1994).





## 2.4 PRINCIPALI DISTURBI FERMENTATIVI DEL BOVINO IN ALLEVAMENTO

Tra i vari disturbi fermentativi dell'allevamento bovino principalmente troviamo l'acidosi ruminale e l'alcalosi ruminale. L'acidosi ruminale, rappresenta nel gruppo dei disturbi fermentativi la più gravosa, perché provoca notevoli ripercussioni economiche dirette e indirette negli allevamenti intensivi di vacche da latte (Morgante et al., 2007).

### 2.4.1 Acidosi ruminale

Quando i carboidrati della dieta dei bovini sono in quantità elevate, aumenta il contenuto in acidi totali e in particolare dell'acido lattico del rumine. Normalmente l'acido lattico è presente nel tratto digestivo a basse concentrazioni ma nel caso dell'acidosi aumenta fino occasionalmente raggiungere 100 mM (Owens et al., 1998). L'acidosi si classifica in tre forme:

- Acuta
- Subacuta
- Cronica

L'attività fermentativa ruminale si svolge con la massima efficienza quando il pH si trova tra 6 e 6,5 ed è per questo motivo che i ruminanti dispongono di sistemi naturali per contrastare l'abbassarsi di tale valore. Il tampone naturale più efficace è costituito dall'acido acetico e dall'acetato di sodio che si formano a seguito della fermentazione della frazione fibrosa degli alimenti (Cevolani et al., 2005).

L'acidosi ruminale è patologia tipica degli allevamenti intensivi dove la frazione fibrosa viene vista come un ingombro e per i fabbisogni energetici si ricorre a materie prime ricche di amido (Hutjens, 1996). Viene anche detta tecnopatia perché è una patologia di allevamento, nata con le moderne tecniche alimentari (esclusione del foraggio verde, introduzione del "Total Mixed Ration" (detto più comunemente TMR), eliminazione della stagionalità della razione) e sviluppatasi in contesti produttivi altamente intensivi come nella Bovina da Latte ad Alta Produzione (BLAP) e nel vitellone da carne, caratterizzati dall'utilizzo massiccio di carboidrati ad alta fermentescibilità.

#### 2.4.1.1 Eziologia

- Cambiamenti alimentari
  - Brusco cambiamento della razione tra asciutta ed inizio lattazione nella BLAP
  - Aumento rapido dei concentrati nella razione

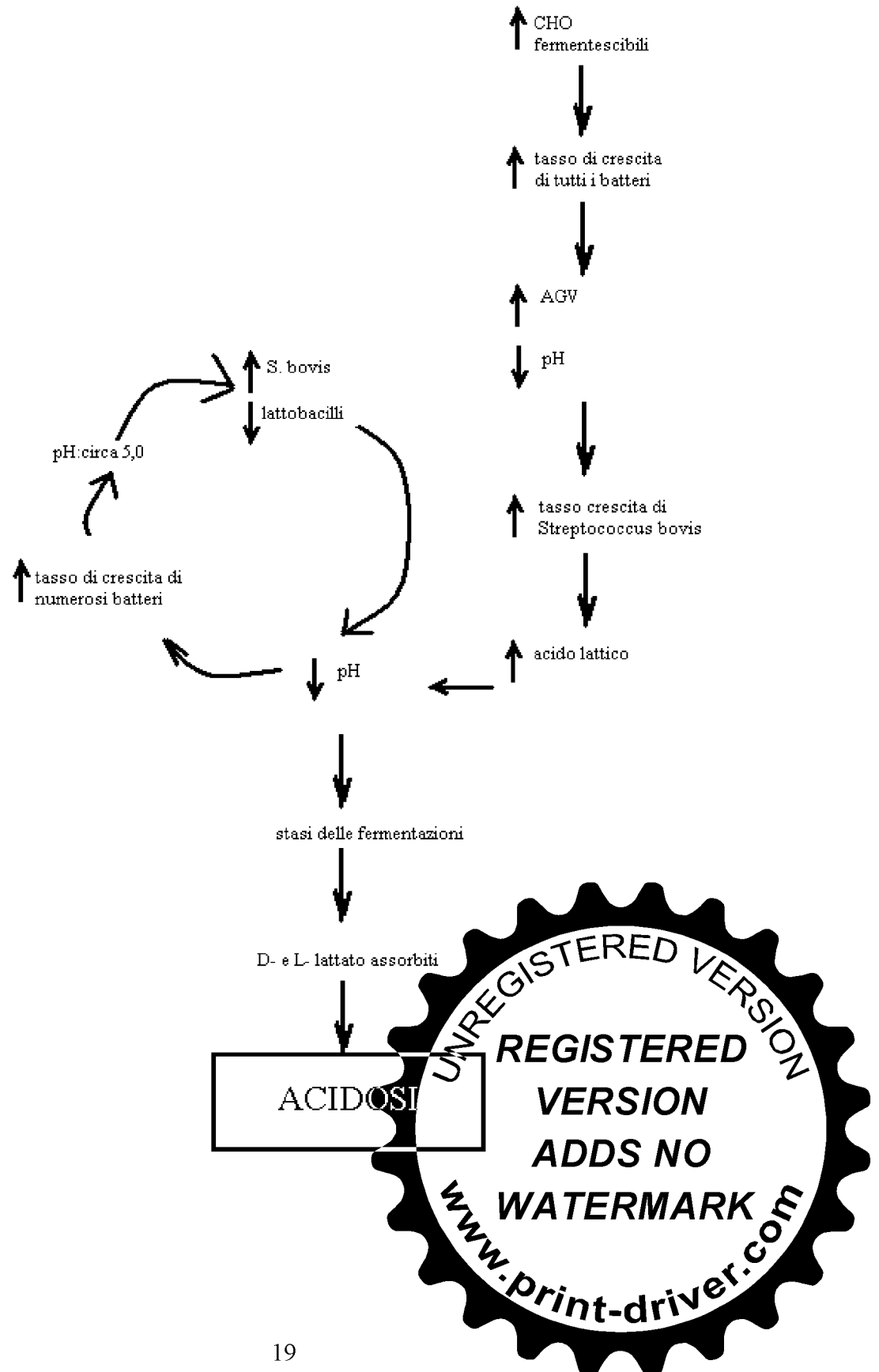


- Squilibri della razione
  - Eccesso di carboidrati fermentescibili
  - Eccessi d'amido
  - La fermentescibilità diminuisce passando dal frumento>orzo>avena>mais>sorgo
  - Eccesso di zuccheri semplici (saccarosio, melasso)
  - Trattamenti ai cereali: fiocatura
  - Insufficienza di foraggi grossolani
  - Scarsità di fibra nelle razioni
  - Eccessiva riduzione delle dimensioni delle particelle di foraggio
  - Cernita degli alimenti da parte degli animali
- Distribuzione degli alimenti
  - Assenza del TMR
  - Distribuzione dei concentrati in sala di mungitura (Dell'Orto e Savoini, 2005).



### 2.4.1.2 Patogenesi

Figura 1. Raffigurazione delle relazioni causa-effetto nell'acidosi (adattata da Nocek, 1997).



### 2.4.1.3 Sintomi

- ❖ Diminuzione della cellulolisi: diminuzione dell'efficienza alimentare;
- ❖ Diminuzione del rapporto acido acetico:acido propionico:
  - diminuzione del grasso del latte
  - inibizione della lipolisi tissutale
  - aumento delle sostanze chetogenetiche e tendenza alla chetosi
- ❖ Aumento dell'acido lattico a livello ruminale:
  - Iperossia, disoressia, anoressia (per lesioni lievi della parete ruminale) con conseguente chetosi
  - Iperparacheratosi della parete ruminale e ascessi epatici/nei casi più gravi);
- ❖ Turbe del microbismo ruminale:
  - Diminuzione della sintesi di vit. del gruppo B (turbe del metabolismo glucidico→ predisposizione alla chetosi);
  - Diminuzione della sintesi proteica batterica, in particolare di amminoacidi solforati (turbe del metabolismo della cheratinizzazione cutanea; alterazione degli unghioni con zoppie);
  - Produzione di amine piogene e soprattutto istaminosimili (rifondimento podale, predisposizione ai flemmoni podali, edemi agli arti, ecc.);
  - Produzione di sostanze con attività immunodepressiva (in associazione all'acido lattico) con tendenza alle infezioni “opportunistiche” (mastiti, metriti, nefriti, ecc.) (Ballarini, 1987).



### 2.4.2 Alcalosi ruminale

Questo disturbo fermentativo avviene a causa di un'alcalinizzazione del contenuto ruminale quando la fermentazione microbica è ridotta mentre l'animale continua ad ingerire saliva. Il pH del liquido ruminale si ritrova su valori tra 7 e 7,5 con una prolungata anoressia, con una inattività della flora ruminale da scarso apporto di foraggi facilmente digeribili ed in qualche caso da semplice indigestione. La bassa velocità di fermentazione non genera abbastanza acidi per neutralizzare il pH alcalino della saliva. In aggiunta a ciò, l'assorbimento degli AGV da parte dell'epitelio ruminale si verifica con la produzione di bicarbonato. Un'alcalosi ruminale può avvenire per la formazione di grosse quantità di ammoniaca, con un pH ruminale al di sopra di 7,5 successivamente all'ingestione di un eccesso di azoto non proteico come ad esempio urea, biureto, fosfato di ammonio. L'ingestione accidentale di qualche fertilizzante che contiene sali di ammonio può provocare detti risultati. I casi gravi sono caratterizzati da tremori muscolari, incoordinazione, debolezza, tachipnea ed eccitazione del SNC. Gli animali affetti possono rapidamente morire. I sintomi di una disfunzione prestomacale come ipotonia ruminale, meteorismo, vomito, dolore addominale, possono essere presenti. Nei casi non troppo gravi, si osserva una diminuzione dell'appetito, ipocinesia ruminale, meteorismo ricorrente, e diarrea che può essere il sintomo principale, insieme alla debolezza muscolare e all'incoordinamento. La malattia si può presentare come una patologia dei prestomaci. Il pH del succo ruminale sarà alcalino tra 7,5 e 8,5 con un forte odore di ammoniaca (Morgante, anno non pubblicato).



## 2.5 GENERALITÀ E ATTIVITÀ FERMENTATIVA DEI CARBOIDRATI NELL'ALIMENTAZIONE DEI RUMINANTI

I carboidrati sono i principali substrati di crescita dei microrganismi ruminanti.

Essi si suddividono in varie tipologie a seconda del grado di polimerizzazione delle molecole. La classificazione più comune si basa proprio sul grado di complessità della molecola articolata in monosaccaridi, oligosaccaridi, polisaccaridi. I monosaccaridi costituiti da una singola unità poliossidrilica aldeidica o chetonica (tra questi il più abbondante fra tutti è il D-glucosio detto anche destrosio). Gli oligosaccaridi sono costituiti da corte catene di unità monosaccaridiche. I più abbondanti tra questi contengono 2 unità monosaccaridiche, i disaccaridi quali il saccarosio (Nelson e Cox, 2006).

I monosaccaridi, gli oligosaccaridi e l'amido servono alla conservazione di riserve energetiche nelle piante e vengono classificati come carboidrati non strutturali totali (NSC) (Smith, 1973).

I polimeri degli zuccheri contenenti più di 20 unità monosaccaridiche sono detti polisaccaridi. Tra questi la cellulosa e l'amido sono tra i più abbondanti in natura (Nelson e Cox, 2002). I polisaccaridi più complessi (20000 molecole di glucosio in su) sono soggetti alla lignificazione. Tale processo consiste nell'incrostazione progressiva della parete vegetale con lignina, polimero formato da una miscela di alcoli (alcol cumarilico, coniferilico e sinapilico) che deprimono la digeribilità della fibra e degli altri composti nutrizionali della parete vegetale.

In una prima fase i polimeri vengono idrolizzati nei loro costituenti monomeri. Dopodiché gli zuccheri semplici vanno incontro ad una serie di reazioni di tipo ossidativo nelle quali si originano composti via via più semplici e ricchi di energia. La fermentazione ruminale si conclude con la produzione di acidi grassi volatili (formico, acetico, propionico e butirrico), acido lattico, etanolo, anidride carbonica e metano. L'attività fermentativa è intensa, efficiente e perenne così da lasciare minime quantità di glucosio a disposizione del ruminante che dall'ingestione di alimenti ricchi di polisaccaridi sostanzialmente ricava solo ciò che costituisce il prodotto finale di rifiuto delle fermentazioni ruminali, gli acidi grassi volatili.

Tutti i carboidrati, ad eccezione di quelli a funzione strutturale vengono considerati composti energetici in gran parte degli organismi viventi. L'eccezione che si ritrova nei carboidrati strutturali viene valorizzata nel complesso delle fermentazioni che avvengono a livello ruminale. Nel ruminante i polisaccaridi strutturali trovano una insostituibile forma di utilizzazione (Mariani e Podestà, 1994). L'abilità a degradare e utilizzare carboidrati strutturali conferisce ai ruminanti una nicchia ecologica unica nel suo genere (Chesson e Forsberg, 1988; Rist e Schraegel, 1996).



### 2.5.1 Zuccheri

Zuccheri sono definiti i monosaccaridi, disaccaridi e gli oligosaccaridi. Questi carboidrati si differenziano dai polisaccaridi (lunghe catene di monosaccaridi) per via della loro solubilità all'80% in etanolo (Asp, 1993). Gli zuccheri sono anche detti carboidrati non strutturali (Smith, 1973) perché non includono l'NDF nel loro contenuto cellulare (Hall, 2002). Il glucosio e il fruttosio sono gli zuccheri semplici più diffusi nelle piante. Molto abbondante nelle piante è il saccarosio, un disaccaride formato da 2 molecole di glucosio. Il lattosio (glucosio+lattosio), è un disaccaride importantissimo perché è lo zucchero del latte. Il maltosio è un disaccaride composto da 2 molecole di glucosio legate da un legame  $\alpha$  (Hall, 2002).

Il cellobiosio non esiste in natura come zucchero libero, ma è il disaccaride costitutivo della cellulosa. È composto da 2 residui di  $\beta$ -D-glucosio uniti con un legame  $\beta(1\rightarrow4)$ . Questo tipo di legame non può essere scisso dagli enzimi dei succhi digestivi dei mammiferi ma da enzimi microbici (McDonald et al., 1988).

Gli oligosaccaridi sono catene composte da 2 a 20 monosaccaridi. In questo gruppo troviamo lo stachiosio e il raffiniosio, zuccheri presenti nel seme di soja (Smith e Circle, 1978).

La fermentazione degli zuccheri avviene molto rapidamente nel rumine. La digestione degli zuccheri è ad opera di complessi enzimatici specifici per ogni tipo di molecola in grado di idrolizzare e ricavare energia dalla scissione dei legami. La flora microbica ruminale dispone ampiamente di questi enzimi e ciò fa sì che nel rumine ci sia un'attività fermentativa molto rapida. Studi riportano un grande potenziale di produzione di acido lattico, con valore massimo a pH bassi (Strobel e Russell, 1986).

La rapida degradazione degli zuccheri, quindi l'elevata fermentescibilità di questi composti permette una veloce cessione di energia prontamente disponibile per le attività cellulari dei microrganismi ruminanti (Hall, 2002).

Nell'alimentazione bovina questi composti sono sempre presenti e forniscono un insostituibile apporto energetico alla flora microbica. La componente zuccherina della dieta solitamente si ritrova in foraggi insilati (sorgo zuccherino, silomais, loiessa) e sottoprodotti della lavorazione della barbabietola da zucchero (melasso, polpe di barbabietola).



### 2.5.2 Amido

L'amido contiene 2 tipi di polimeri di glucosio, l'amilosio e l'amilopectina. Il primo è costituito da lunghe catene non ramificate di unità di D-glucosio, l'amilopectina invece è molto ramificata ma sempre costituita da unità di D-glucosio (Nelson e Cox, 2002).

Generalmente, i carboidrati non strutturali vengono interamente degradati nel rumine per opera della flora microbica (Nocek e Tamminga, 1991).

I polisaccaridi delle piante come l'amido sono degradati da complessi enzimatici dei batteri e funghi ruminali producendo oligosaccaridi. Attraverso l'idrolisi, che avviene sotto l'azione enzimatica si ottengono diversi tipi di prodotti (Hoover e Stokes, 1991).

Alcuni enzimi idrolitici le  $\alpha$ -amilasi e le  $\beta$ -amilasi, producono principalmente maltosio, maltotriosio, omo- oligo-saccaridi e poche quantità di glucosio in forma libera. Altri enzimi quali le amiloglucosidasi e le glucamilasi, liberano glucosio in forma libera o insieme a destrine. Le destrinasi invece idrolizzano entrambi i tipi di legame glicosidico presenti nell'amido. La degradazione dell'amido nel rumine avviene mediante attività enzimatiche extracellulari nel caso dei miceti (*Neocallimastix frontalis*, *Neocallimastix joyonii*, *Piromonas communis* e *Sphaeromonas communis*) e dei batteri amilolitici, e con attività intracellulari nel caso dei protozoi (*Isotricha intestinalis*, *Isotricha prostoma* e gli Entodinomorfi) i quali, a differenza degli altri 2 tipi cellulari, fagocitano particelle di amido avviandole al proprio sistema lisosomiale garantendo un utilizzo dell'amido in ragione più graduale e con minor rischio di caduta del pH ruminale (Mariani e Podestà, 1994). Quindi l'amido attraverso l'idrolisi enzimatica principalmente diviene oligosaccaride come maltotriosio e maltosio. Quest'ultimi verranno utilizzati dai batteri come substrato energetico producendo A.G.V. L'amido o i suoi derivati diventano un problema quando sono presenti batteri lattato-produttori come il *Streptococcus bovis*. Il metabolismo dei lattato-produttori ha come principale prodotto di fermentazione, l'acido lattico. Questo acido forte se presente in concentrazioni elevate abbassa fortemente il pH del rumine, provocando l'acidosi ruminale.

L'amido nell'alimentazione bovina degli allevamenti intensivi viene considerata la fonte energetica principale. Alimentare le vacche da latte con diete ricche in cereali e altri carboidrati altamente fermentescibili aumenta la produzione di latte ma favorisce l'insorgenza dell'acidosi ruminale subacuta (Krause e Oetzel, 2006). L'amido è sempre presente in concentrazioni rilevanti nella dieta di animali che soffrono di acidosi. L'utilizzazione dell'amido nei ruminanti è inefficiente probabilmente per via del pH ruminale che molto si discosta da quello ottimale necessario per la fermentazione dell'amido, l'amilasi bovina funziona bene a pH molto più basso di quello fisiologico del rumine (Wheeler, 1977). Da test in vitro di Strobel e Russell (1986), troviamo nessuna perdita di





efficienza di fermentazione dell'amido passando da pH fisiologico ruminale tipico (6,6) ad un livello di pH tipico dell'acidosi ruminale subacuta (5,8). Il pH del rumine, tra 6 e 7, e del tratto intestinale, circa 7 (Kern et al., 1974), ci indica un'inadeguata capacità tampone nei confronti di un'elevata concentrazioni di elementi nutritivi che è condizione inadatta alle caratteristiche costituzionali del sistema digestivo (Van Soest, 1994).

Per avere una migliore utilizzazione soprattutto in termini di digeribilità le materie prime ricche di amido vengono trattate con vari sistemi che vengono suddivisi in 3 categorie: processi a freddo (macinatura, spezzettatura, pellettatura, insilamento, estrusione) processi a calore a secco (micronizzazione, scoppatura mais) e processi idrotermici (fiocatura, schiacciatura).

Le varie fonti di amido trattate termicamente e/o meccanicamente migliorano il loro grado di utilizzazione in base alla specie animale che viene alimentata.

Malgrado questi processi vadano a migliorare il grado di utilizzazione dell'amido, l'utilizzo dell'amido nelle diete deve essere sempre cauto per via della correlazione esistente tra amido e acidosi ruminale.

### 2.5.3 Fibra

La fibra è una componente fondamentale della parete cellulare dei vegetali. Al termine fibra si associano tutti quei polisaccaridi contenuti nei vegetali, dotati di funzione strutturale legati in % variabili a molecole di lignina. È una famiglia numerosa che si differenzia per il grado di complessità delle molecole, e classificata in base alla % di digeribilità. Questa percentuale è correlata al contenuto di lignina, che aumentando provoca la diminuzione della digeribilità (Reeves, 1987).

La fibra può essere classificata in:

- fibra indigeribile (lignina);
- polisaccaridi strutturali (cellulosa, emicellulosa);
- fibra solubile (pectina,  $\beta$ -glucani).

#### **2.5.3.1 Cellulosa**

La cellulosa è un omopolisaccaride lineare, non ramificato, composto da circa 1000-1500 unità di D-glucosio (Nelson e Cox, 2002).

È la più abbondante forma di carboidrato presente in natura, rappresenta circa il 20-40% della sostanza secca delle piante superiori (Van Soest, 1994).

La cellulosa non può essere digerita direttamente dai mammiferi bensì da microrganismi presenti negli stomaci dei ruminanti e nell'intestino di erbivori, in grado di idrolizzare il legame  $\beta$ -e di



fermentare i prodotti in acidi grassi a catena corta, che sono la principale fonte di energia (Murray et al., 2004). Il prodotto finale della degradazione della cellulosa è il D-glucosio. La degradabilità della cellulosa spazia da completa a nulla, in funzione del grado di lignificazione (vedasi tab. 2).

**Tabella 2. Digeribilità e rapporto lignina-cellulosa in alcune materie prime (Modificato da: Van Soest, 1973; Van Soest e Robertson, 1976)**

MATERIE PRIME	DIGERIBILITA'	RAPPORTO LIGNINA-CELLULOSA
Erba medica	40-60%	0,18-0,30
Foraggio della zona temperata	48-90%	0,08-0,20
Foraggio della zona tropicale	30-60%	0,11-0,24
Paglia	40-60%	0,10-0,26
Bucette di soja	94%	0-0,03
Pula di cotone	50%	0,55
Pula di riso	0	0,45
Carta di quotidiano	23-27%	0,34-0,43
Carta in genere	20-99%	0-0,50
Legno	0-40%	0,30-0,60
Verdura in foglia	90-100%	0-0,05

Per definire la digeribilità della cellulosa si devono considerare le caratteristiche intrinseche della cellulosa considerata (Van Soest, 1994) (vedasi tab. 2).

La cellulosa è degradata nel rumine da un pool di microrganismi anaerobici di batteri, protozoi e funghi. I batteri cellulolitici del rumine più importanti sono *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*, e *Fibrobacter succinogenes* (Bryant, 1973). Anche i protozoi ciliati e i funghi hanno attività cellulolitica ma contribuiscono in misura minore alla degradazione della cellulosa (Dehority, 1993).

La lisi della cellulosa avviene da enzimi posizionati in prossimità del substrato. Numerosi enzimi si occupano della scissione della cellulosa. Tre sono le attività enzimatiche di base coinvolte:

- la endo- $\beta$ -1,4-glucanasi che trasforma il polisaccaride in oligosaccaride,
- la eso- $\beta$ -1,4-glucanasi che produce il cellobiosio
- $\beta$ -1,4-glucosidasi che idrolizza il cellobiosio a glucosio (White et al., 1993).

Stewart (1977) ha trovato che la cellulolisi è inibita in vitro quando il pH cade sotto 6,0, e risultati simili sono ottenuti in vivo (Burroughs et al., 1949; Orskov e Fraser, 1975). Ciò testimonia come l'optimum per la crescita e la fermentazione batterica nel rumine sia al pH fisiologico 6-6,5.

### 2.5.3.2 Emicellulosa

Le emicellulose sono definite polisaccaridi alcali-solubili delle cellule delle pareti vegetali. Figurano fra le sostanze che accompagnano la cellulosa. Le emicellulose sono composte prevalentemente da molecole di D-glucosio, D-galattosio, D-mannosio, D-xilosio e L-arabinosio. Nelle erbe dei climi temperati, il più comune polisaccaride è lo xilano, costituito da unità di D-xilosio unite da legami  $\beta(1\rightarrow4)$  e con catene laterali formate da acido metilglucuronico e frequentemente da glucosio, galattosio e arabinosio (Mac Donald e Edwards, 1988).

L'emicellulosa, come la cellulosa ha digeribilità inversamente proporzionale al contenuto di lignina (Van Soest, 1994).

I batteri elencati prima come cellulolitici hanno anche una importante azione emicellulolitica (Hespell, 1988). La degradazione dell'emicellulosa avviene con modalità molto simili a quelle riportate per la cellulosa: anche per questa molecola troviamo endo-glicanasi ed eso-glicanasi che depolimerizzano e solubilizzano le catene polisaccaridiche (White et al., 1993).

### 2.5.3.3 Fibra solubile

Mi riferisco a quel gruppo di carboidrati che hanno funzione strutturale e dotati di forte solubilità, mi riferisco al gruppo delle pectine e al gruppo dei  $\beta$ -glucani. Queste famiglie di composti hanno decorso fermentativo simile a quello della cellulosa ma più rapido (Van Soest et al., 1991) e con percentuali di digeribilità molto simili a quelle riscontrate per l'amido (Van Soest, 1994).

La rapidità della loro degradazione li rende simili ai carboidrati amidacei ma a differenza di questi ultimi non abbiamo come prodotto finale di fermentazione l'acido lattico (Van Soest et al., 1991), bensì acido acetico.

#### 2.5.3.3.1 Pectina

La pectina è un polisaccaride ricco in acido galatturonico, che rientra fra i costituenti della parete cellulare vegetale ((Mac Donald et al., 1992; Van Soest, 1994). Sono particolarmente abbondanti nei tessuti molli come quelli della buccia degli agrumi e della polpa di barbabietola da zucchero. Le pectine sono costituite da polimeri in catene lineari dell'acido D-galatturonico, i cui gruppi carbossilici sono in misura diversa esterificati con alcool metilico. Queste catene sono interrotte, ad intervalli, dalla inserzione di residui di L-ramnosio. Altre catene laterali sono formate da zuccheri, quali D-galattosio, l'L-arabinosio e il D-xilosio. Molto simile alla pectina è l'acido pectico, la cui struttura è simile a quella delle pectine ma priva dei gruppi esterificati con metanolo (Mac Donald et al., 1992; Van Soest, 1994). Questo polisaccaride è normalmente contenuto nell'erba fresca in percentuali tra il 15 e il 30% (Mac Donald et al., 1992) e diminuisce nei foraggi affienati per via



della respirazione cellulare. La degradazione della pectina avviene per mezzo della pectasi, pectin-esterasi (Chesson e Forsberg, 1988; White et al., 1993) e viene rapidamente degradata nel ruminante (Nocek e Tamminga, 1991) con la produzione finale di acido acetico.

Strobel e Russell (1986) indicano una diminuzione della fermentazione pectica a pH 5.8 (pH nelle condizioni di Acidosi ruminale subacuta) rispetto a pH 6.7 (pH fisiologico normale) del 53%. Molti batteri cellulolitici hanno anche attività pectinolitica, ma non sono in grado di utilizzare i prodotti della degradazione della pectina quali gli oligogalatturonidi e l'acido galatturonico per la loro crescita (Moore e Hatfield, 1994). Oltre ai predominanti cellulolitici, *Lachnospira multiparus* è considerata importante come microrganismo pectinolitico (Dehority, 1993).

Solo una piccola parte di sostanza pectica viene persa durante la digestione perché rimane legata a componenti della parete cellulare (Bailey e Ulyatt, 1970); pertanto questa sostanza è caratterizzata da un elevato grado di digeribilità.

La pectina si può distinguere dall'emicellulosa per via della solubilità: le pectine sono solubili in soluzione calda neutra di ossalato d'ammonio mentre l'emicellulosa per solubilizzarsi richiede acidi o basi. La maggiore solubilità della pectina rispetto all'emicellulosa è collegata all'assenza di frazioni lignificate che nell'emicellulosa e ancor più nella cellulosa e nella lignina provocano una diminuzione della digeribilità (Van Soest, 1994).

L'elevato grado di solubilità della pectina è un'importante caratteristica nutrizionale: interessante notare come la pectina sia digeribile quanto gli altri carboidrati non strutturali come il fruttano, l'amido e i galattani (Kronfeld e Van Soest, 1976) ma rientri nella categoria della fibra principalmente per via della sua azione strutturale come "cementante" nei vegetali e per via dei prodotti di fermentazione, soprattutto acido acetico, nella fisiologia del ruminante (Van Soest, 1994).

#### 2.5.3.3.2 $\beta$ -glucani

I  $\beta$ -glucani sono carboidrati solo in parte solubili in acqua formando soluzioni viscosi che per essere completamente degradate richiedono un'aggiunta di idrossido di sodio (Jeraci e Lewis, 1989).

Sono presenti in piccole quantità nelle cellule delle pareti dell'erba, in maggiori quantità nei semi dei cereali sotto forma di crusca. La digeribilità dei  $\beta$ -glucani si pone intermedia tra quella della pectina e quella della cellulosa (Van Soest et al., 1991).

#### 2.5.3.4 Azione della lignina sui carboidrati strutturali

La lignina è un polimero di tre derivati del fenilpropano (Mac Donald et al., 1992). Fornisce una insostituibile azione strutturale nella parete cellulare vegetale e possiede una forte resistenza alla



degradazione chimica. La sua presenza impedisce l'azione degli enzimi cellulolitici. Compromette la digeribilità dei nutrienti a questa legata, quali le proteine delle pareti cellulari e i polisaccaridi vegetali (Jung, 1989). La relazione negativa tra la concentrazione di lignina e digeribilità del foraggio è ormai appurata (Jung e Vogel, 1986; Jung, 1989; Akin e Chesson, 1990).



## 2.6 CARATTERISTICHE DELL'ERBA

### 2.6.1 Generalità

Il bovino al pascolo basa la sua alimentazione sull'ingestione di erba fresca. Tale alimento è il prodotto della crescita vegetativa di essenze prative. L'erba, detta anche foraggio fresco può essere facilmente riconosciuta dai foraggi conservati per le seguenti caratteristiche:

- Freschezza. Il foraggio verde contiene succhi e tessuti cellulari vitali. L'erba appena sfalciata contiene elementi nutritivi facilmente ossidabili al solo contatto con l'aria rendendo così inevitabile la loro perdita durante le pratiche di conservazione.
- Scarsa conservabilità. Il foraggio fresco per essere utilizzato come tale, deve essere consumato nell'arco di qualche ora.
- Elevata fermentescibilità. Il foraggio fresco inizia a fermentare a poche ore dalla raccolta con intensità variabile in base al clima e come tale, può essere consumato con 2 modalità:
  - o Assunzione diretta delle bovine in pascolo;
  - o Sfalcio per mezzo di attrezzature agricole e consumo nell'arco di 1-2 giornate previa somministrazione in mangiatoia.
- Valore nutritivo superiore. Escluse le situazioni estreme (post-fioritura) il foraggio fresco presenta il più alto V.B. tra i vari tipi di foraggio, così come propone Kirchgessner, (1985) ecco la graduatoria ascendente del V.B. dei vari tipi di foraggio :
  - fieni essiccati al suolo
  - fieni essiccati al coperto
  - fieno-silos
  - foraggi formellati
  - foraggi verdi.
- Alto contenuto vitaminico. La presenza particolarmente elevata (circa 550 mg/kg S S) della provitamina A detta anche carotenoide (Mac Donald et al., 1992) rappresenta fattore di crescita, di rigenerazione sanguigna e di difesa contro le infezioni (Piccioni, 1989). È riscontrabile in quantità molto elevate, tali da fornire una quantità pari a circa 100 volte il fabbisogno di una vacca al pascolo che ne mangia una normale quantità. La maggior carica vitaminica si ritrova in linea generale per tutte le vitamine. Generalmente si ritiene che le erbe in crescita non contengano vit. D, in compenso presentano i precursori. La maggior parte dei foraggi verdi è buona fonte di vit. E e di molte vit. del gruppo B (specialmente riboflavina) (Mac Donald et al., 1992).



- Umidità elevata nel foraggio verde fresco. Essa è variabile in base allo stadio fisiologico di raccolta. Rappresenta uno tra i motivi principali che ostacolano la conservazione di questo foraggio verde com'è tale. L'abbondante presenza di acqua influenza fortemente la digeribilità del foraggio verde fresco: è noto come il foraggio all'avanzare della maturazione aumenti il contenuto di S.S. e nel frattempo diminuisca la digeribilità (Mac Donald et al., 1992).
- Presenza di proteasi vegetali attive. Le proteasi vegetali del foraggio verde agiscono a livello del rumine rendendo prontamente disponibili gli amminoacidi per la flora microbica ruminale. Subito dopo il taglio, le proteasi vegetali idrolizzano le proteine in amminoacidi e nel giro di 12-24 ore, il 20-25% dell'N totale è trasformato in N non proteico (Mac Donald et al., 1992) e sotto forma amminoacidica (Theodorou et al., 1996). Questo aspetto influenza i valori di digeribilità delle proteine all'interno del rumine dove la flora cellulolitica è poco propensa all'azione proteolitica, e che si fa più consistente nell'abomaso per via delle secrezioni gastriche e pancreatiche (Broderick et al., 1991; Wallace, 1995).

#### 2.6.2 Analisi della composizione nutrizionale dell'erba

Il valore nutritivo dei foraggi dipende dal diverso contenuto in sostanze nutritive digeribili, in vitamine ed elementi minerali, che le erbe possiedono a seconda dello stadio vegetativo durante il quale sono utilizzate e sotto l'influenza di fattori ambientali climatici, podologici, agronomici (Borgioli, 1985).

È possibile far rientrare ciascun parametro nutrizionale del foraggio verde in un range di riferimento.

Nella tabella 3 vengono riportati dati relativi alle foraggere più coltivate appartenenti alla famiglia botanica delle Leguminose e della Graminacee. I range di riferimento riportati in Tab. 3 indicano una forte variabilità della composizione nutrizionale dei foraggi, che nella pratica è data da una singola specie botanica nel caso del prato monofita e più specie botaniche nel caso del prati oligofiti e polifiti.



**Tabella 3. Range di riferimento nella composizione nutrizionale del foraggio fresco (adattato da Borgioli, 1983; Mac Donald et al., 1992; \* Dijkshoorn, 1973).**

COMPONENTI NUTRIZIONALI	QUANTITÀ CONTENUTE	NOTE
Acqua	65-85% sul T.Q	Valore massimo nelle erbe giovani, declina con la maturazione
Proteine grezze	3-30% sulla S.S.	Valore massimo nelle erbe giovani, declina con la maturazione, maggiore nelle leguminose che nelle graminacee
Fibra grezza	20-40% sulla S.S.	Valore minimo nelle erbe giovani, cresce con la maturazione
Carboidrati idrosolubili	4-30% sulla S.S.	Valore maggiore nelle graminacee che nelle leguminose
Cellulosa	20-30% sulla S.S.	Valore minimo nelle erbe giovani, cresce con la maturazione
Emicellulosa	10-30% sulla S.S.	Valore minimo nelle erbe giovani, cresce con la maturazione
Lipidi	<6% sulla S.S.	-----
Acidi organici	<10% sulla S.S.*	Valore massimo nelle erbe giovani, declina con la maturazione

La composizione nutrizionale dipende dalle proporzioni quantitative delle graminacee e delle leguminose. Wilson e Kennedy (1996) riconoscono sostanziali differenze tra la morfologia e la struttura cellulare di erbe di graminacee, trifoglio bianco, trifoglio rosso e erba medica che colpiscono sull'ingestione, la masticazione, la ruminazione. La variabilità della composizione nutrizionale del foraggio è significativa per tutti gli elementi nutrizionali dell'erba (vedi tab.3).

### 2.6.3 Componenti dell'erba con funzionalità nutraceutica nei riguardi dei disturbi fermentativi

#### **2.6.3.1 L'acido citrico**

L'acido citrico è da molto tempo conosciuto come substrato della sintesi di sostanze fenoliche (Dijkshoorn, 1973), ma sono state poco studiate le sue influenze sulle fermentazioni ruminanti e sui prodotti finali (Packett e Fordham, 1965).

L'acido citrico in vitro e in vivo viene utilizzato con rapidità dai microrganismi del ruminante (Wright, 1971; Packett e Fordham, 1965).

Un'aggiunta di acido citrico nel fluido ruminale provoca un decremento del pH e un incremento della produzione di acidi grassi volatili in vitro e in vivo. Inoltre determina un significativo cambiamento della proporzione degli acidi grassi volatili, provocando un significativo incremento





della percentuale di acetato e una diminuzione per i contenuti di propionato e butirato (Packett e Fordham, 1965).

Assieme agli altri acidi organici contenuti nell'erba (acido malico, acido shikimico, acido succinico, acido quinico) costituisce circa il 10% del contenuto in sostanza secca dei foraggi freschi (Dijkshoorn, 1973).

L'acido citrico contenuto nel *Lolium* oscilla tra lo 0,4% e lo 0,7% sulla S.S (Hirst e Ramstad, 1957), in un pascolo misto troviamo variabilità di contenuto che va da 0,88% a 1,34% (Wilson et al., 1969).

### 2.6.3.2 L'acido malico

L'acido malico si trova nei foraggi specie quelli freschi. Esso rientra tra i prodotti intermedi del ciclo di Krebs e come ogni intermedio del ciclo di Krebs può essere trasformato in glucosio (Nelson e Cox, 2006). L'acido malico è prodotto intermedio della fotosintesi ed è contenuto in concentrazioni maggiori nelle foglie rispetto allo stelo (Vickery e Pucher, 1940).

Notevoli sono le perdite per questo acido durante i cantieri di fienagione ed insilamento perché va incontro ad una rapida ossidazione. Le perdite di origine meccaniche come lo stacco delle foglie durante le operazioni di fienagione e in minor misura nell'insilamento comportano una riduzione del contenuto in acido malico.

La produzione per via sintetica a livello industriale è troppo costosa (Callaway e Martin, 1997).

I foraggi verdi possono contenere acido malico in concentrazioni sino al 10% sulla S.S (Dijkshoorn, 1962, 1973; Stout et al., 1967). Callaway e Martin (1997) hanno analizzato il foraggio verde di *Medicago Sativa* e *Cynodon dactylon* dimostrando che è possibile attraverso la selezione genetica, aumentare il contenuto di malato.

#### 2.6.3.2.1 La relazione tra la concentrazione nel rumine di Sodio e l'utilizzazione del malato

Concentrazioni di  $\text{Na}^+$  tra 25 e 100 mM stimolano l'assorbimento di lattato da *S. ruminantium* HD4 in presenza di 10 mM di L-malato. In assenza di malato l'assorbimento di lattato non è correlabile con la concentrazione di Sodio nel rumine (Nisbet e Martin, 1994). È pertanto presumibile una relazione tra L-malato e il ruolo del  $\text{Na}^+$  nell'assorbimento del L-lattato dal *S. ruminantium* HD4.

Il  $\text{Na}^+$  è il catione più presente nel rumine, e la sua concentrazione oscilla tra un minimo di 90 e 150 mM, così da non potersi considerare un fattore limitante quello del  $\text{Na}^+$ . Resta interessante questa relazione che può dare indizi utili per studi futuri in questo ambito (Durand e Kawashima, 1980).



#### 2.6.3.2.2 L'utilizzazione del malato dai batteri ruminanti

Pochi batteri anaerobi sono in grado di utilizzare l'acido malico per ricavare energia. Uno tra questi è il *S. ruminantium*, una specie batterica molto prolifica nel rumine (Gottschalk, 1986). Attraverso una serie di reazioni riduttive conosciute come la via del succinato-propionato viene sintetizzato propionato e/o succinato (Gottschalk, 1986). Russell e Van Soest (1984) affermano che 7.5 mM di malato vengono fermentati nell'ambiente ruminale nell'arco di 10 ore con acetato e propionato come prodotti finali della fermentazione.

Già nel 1978, Linehan et al. dimostrano che *S. ruminantium* HD4 in concentrazioni normali di lattato richiede CO<sub>2</sub>, acido p-aminobenzoico, biotina e L-aspartato per la sua crescita, quest'ultimo sostituibile dall' L-malato.

Successivamente Nisbet and Martin, (1990) indicano che il *S. ruminantium* HD4 riesce ad aumentare (rispetto a condizioni di assenza) l'assorbimento di L-lattato :

- di 10 volte in presenza di 10 mM di L-malato
- di 4 volte in presenza di 10 mM di fumarato o aspartato
- di 10 volte in presenza di 10 mM ripartite in fumarato, malato e aspartato.

Come si può notare, l'L-malato evoca la risposta più efficace e più forte, nell'aumento dell'assorbimento del lattato.

L'anno successivo sempre Nisbet e Martin, affermano che dosi crescenti di L-malato (da 0,03 a 10mM) aumentino l'assorbimento di L-lattato da parte del *Selenomonas ruminantium*. Gli stessi autori, nel 1993 e nel 1994 confermano che il malato è in grado di aumentare l'efficienza di assorbimento dell'L-lattato

Nel 1991, Nisbet and Martin in carenza di ossaloacetato, hanno provato che il malato si lega con l'H<sub>2</sub> provocando un aumento dell'assorbimento di L-lattato da parte dell'*S. ruminantium* HD4.

Quando il *S. ruminantium* HD4 e HD18 sono incubati in un mezzo che contiene aspartato, fumarato, e malato in presenza di 1 atm di H<sub>2</sub>, si nota una significativa crescita cellulare (Martin e Park, 1996). L'HD18 è una specie di *S. ruminantium* che si differenzia dall'HD4 perché non è in grado di crescere con lattato se nel substrato di coltura non abbiamo Na<sup>+</sup> e aspartato, ma la presenza di malato o fumarato sostituisce l'esigenza dell'aspartato (Strobel e Russell, 1991).

Se nel caso precedente non si utilizzasse nel substrato di sperimentazione il fumarato, malato, aspartato, si avrebbe un basso assorbimento di lattato (Martin e Park, 1996).

#### 2.6.3.2.3 Utilizzo del malato come terapeutico nella cura dell'acidosi ruminale

Nelle razioni alimentari dei bovini allevati con sistemi intensivi spesso si possono incontrare razioni molto ricche di carboidrati rapidamente fermentescibili come l'amido contenuto nelle farine dei



cereali. In questi casi è elevato il rischio di accumulo di acido lattico e caduta del pH fisiologico del rumine (Slyter, 1976; Russell e Hino, 1985; Russell e Strobel, 1989) con concentrazioni di lattato attorno alle 29 mM (Counotte et al., 1981). A queste concentrazioni di acido lattico il pH ruminale scende sotto il valore di 6,0 con numerosi effetti quali la riduzione della digestione di fibra, la diminuzione dell'ingestione giornaliera di sostanza secca, diminuzione della salivazione, ulcere a livello ruminale e nei casi più gravi la morte (Slyter, 1976; Russell e Hino, 1985).

Su esperimenti condotti in vitro è stato visto come il malato aumenta l'assorbimento del lattato nel *S. ruminantium* in ciascuna delle tre concentrazioni di lattato utilizzate in ricerca, con pH ruminale di 5,5. Questi risultati indicano che il malato aumenta il pH ruminale e provoca la diminuzione delle concentrazioni ruminali di lattato (Martin e Streeter, 1995; Callaway e Martin, 1996). Stimola l'assorbimento dell'acido lattico da parte del batterio più presente nel rumine: il *Selenomonas ruminantium* (Nisbet e Martin 1990, 1991, 1993, 1994). La concentrazione del malato tra 0.03 e 10 mM (concentrazione nel fluido ruminale) aumenta l'assorbimento dell'acido lattico (Nisbet e Martin, 1991). Callaway e Martin (1997) indicano che a basse concentrazioni nel fluido ruminale di acidi organici tra i quali l'acido malico si riducono le possibilità di crescita del *S. ruminantium*. Test di laboratorio accertano che un pool di microrganismi ruminali posizionati su substrati contenenti mais spezzato e amido, sottoposti a trattamento con malato diminuiscono le concentrazioni di lattato e incrementano il pH del substrato (Callaway e Martin 1996, Martin e Streeter, 1995). Questi risultati evidenziano l'importante ruolo svolto dal malato nella biochimica del *Selenomonas ruminantium*, e lo rendono interessante per la cura dell'acidosi ruminale.

Molti autori vedono la possibilità di accoppiare l'utilizzo di questo acido con il Monensin, un antibiotico ionoforo che va a diminuire la produzione di lattato a causa della sua attività battericida nei confronti dello *Streptococcus bovis*. Utilizzando contemporaneamente questi due composti si ottiene un effetto additivo (Russell, 1987; Russell e Strobel, 1989; Callaway e Martin, 1996; Castello et al., 2004).

L'opinione pubblica statunitense negli ultimi anni ha colpevolizzato ripetutamente l'utilizzo delle sostanze ionofore, tra cui il Monensin, largamente utilizzato nella zootecnia e visto come non salutare dai consumatori. Per tale motivo negli Stati Uniti l'acido malico potrebbe diventare l'additivo in grado di migliorare le performance bovine, in grado di sostituire i promotori di performance come il Monensin, per le analogie tra gli effetti dell'acido malico e gli effetti delle sostanze ionofore.

Parecchi autori hanno notato come l'utilizzo del L-malato nell'allevamento intensivo del bestiame da reddito migliori le performance produttive (Nisbet e Martin, 1994; Martin e Streeter, 1995; Callaway e Martin, 1996).



### 2.6.3.3 I fruttani

La composizione dei carboidrati di riserva si diversifica fortemente in base alla specie botanica e alla parte di pianta considerata. Nel caso dell'erba della zona temperata troviamo due tipologie di carboidrati di riserva: l'amido è contenuto nei semi, mentre i fruttosani nelle foglie e negli steli. Nelle erbe dei climi tropicali si osserva l'assenza dei fruttosani in qualsiasi parte della pianta e come carboidrato di riserva troviamo l'amido nelle foglie, negli steli, nei semi (Van Soest, 1994).

La famiglia dei fruttani comprende carboidrati solubili in acqua fredda che svolgono nella pianta funzione di riserva energetica (McDonald et al., 1988; Suzuki e Chatterton, 1993) nei ruminanti fonte energetica e appetizzante (Suzuki e Chatterton, 1993; Van Soest, 1994).

I fruttani detti anche fruttosani sono oligo e polisaccaridi del fruttosio. Vengono considerati due tipi di fruttano:

- Il fruttano dell'erba è altamente solubile, caratterizzato da un legame  $\beta$  2-6 che unisce ogni singola molecola di glucosio al fruttosio. Si trova negli steli e nelle foglie delle erbe della fascia temperata (Van Soest, 1994; Manners, 1985; Pontis e Del Campillo, 1985).
- Il fruttano delle Compositae detto inulina è meno solubile del precedente, caratterizzato da un legame  $\beta$  2-1 che unisce ogni singola molecola di glucosio al fruttosio. Si trova negli organi di riserva sotterranei delle piante (Van Soest, 1994). È di scarso interesse zootecnico nell'allevamento bovino.

I componenti delle razioni dell'allevamento intensivo sono scarsi in fruttano (vedi tab. 4), nutriente molto presente invece nelle erbe della zona temperata (Van Soest, 1994). Alte concentrazioni di fruttani in natura si trovano nella famiglia delle Poacee. Esse sono coltivate spesso nei pascoli e nei prati della zona climatica temperata (Suzuki e Chatterton, 1993). Sono carboidrati di facile degradazione che a causa della respirazione cellulare vanno persi quasi sempre durante le operazioni di fienagione ed insilamento. La quantità di fruttani che si ritrova nell'erba in concentrazioni variabili è influenzata negativamente con lo stress idrico, maggiore è quest'ultimo minore sarà la percentuale di fruttani rispetto a condizioni normali di approvvigionamento.



**Tabella 4. Contenuto in fruttani in alcune materie prime zootecniche (da Hussein et al., 1998).**

**\* da McDonald et al., (1992).**

ALIMENTO	FRUTTANI (mg/g sulla S.S)
Erba medica	2,24
Orzo	1,92
Polpe di bietola	0,05
Avena	0,36
Scorze di arachide	2,40
Riso soffiato	0,14
Bucchette di soja	0,12
Frumento	1,36
Crusca di frumento	4,00
Germe di frumento	4,68
Cruschello di frumento	5,07
Erba di loietto	0,7*

Dalla Tab. 5 possiamo notare il fruttano come il più importante carboidrato non strutturale dell'erba. Sono stati trovati effetti alimentari positivi dei fruttani nell'alimentazione umana, avicola e suinicola.

Van Loo (2007), indica che nei ruminanti gli effetti dei fruttani sono più difficili da analizzare per via della complessa serie di reazioni che degradano i fruttani nel ruminante. Contrariamente a quanto avviene negli altri animali, i fruttani non raggiungono il tratto intestinale nei bovini perché utilizzati dalla flora microbica ruminale.



**Tabella 5. Composizione glicidica calcolata in % sulla S.S. del *Lolium italicum* tagliato precocemente (Mc Donalds et al. 1992).**

COMPOSIZIONE GLICIDICA	% sulla S.S
Fruttosio	1,3
Saccarosio	4,5
Oligogosaccaridi (escluso il saccarosio)	1,9
<b>Fruttani</b>	<b>7,0</b>
Galattani	0,9
Arabani	2,9
Xilani	6,3
Cellulosio	20,2

L'utilizzo alimentare dei fruttani nell'alimentazione del vitello ha avuto risultati positivi. Van Leeuwen e Verdonk (2004) indica una migliore performance di crescita sui soggetti alimentati con integrazione di inulina.

Anche nel bovino adulto questi zuccheri hanno un effetto prebiotico. Nel rumine, organo in cui presiedono innumerevoli fermentazioni ritroviamo una flora microbica composta più o meno importante per il bovino. Ogni specie batterica presente nel rumine ha ruolo ben preciso: qualche specie batterica è patogena, alcuni batteri sono "salutari", altri sopprimono batteri patogeni. Tra quest'ultimi troviamo i generi *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, che beneficiano per l'ingestione di fruttani, così da aumentare in dimensione di popolazione. Essi sopprimono l'attività dei batteri putrefattivi, e riducono la formazione di prodotti tossici di fermentazione (Tomomatsu, 1994).

Tra questi troviamo l'ammoniaca (tossina per il fegato), amine (tossina per il fegato), nitrosammine (cancerogene), fenoli e cresoli (promotori di cancro), indolo e skatolo (cancerogeni), estrogeni (cancerogeni/promotori di cancro sospettati), acidi biliari secondari (cancerogeni/promotore attivo del cancro al colon) e aglicone (sostanza con effetto mutageno) (Flickinger et al., 2003).

I batteri che producono i metaboliti qui sopraccitati sono l'*Escherichia coli* e i clostridi (produttori di ammoniaca, amine, nitrosamine, fenoli, indolo, aglicone e acidi biliari secondari), *Bacteroides* spp., *Streptococcus fecalis* (produttori di nitrosoamine, aglicone e acidi biliari secondari) e *Proteus* (ammoniaca, amine e indolo) (Tomomatsu, 1994).



Gli effetti considerevoli dei fruttani che agiscono come prebiotici nei ruminanti suggeriscono la sostituzione di alcuni antibiotici per la prevenzione delle patologie infettive in particolare per le forme enteriche (Flickinger et al., 2003).



### 2.6.3.4 Oli essenziali e tannini

Oli essenziali e tannini fanno parte di una vasta gamma di composti organici derivati dal metabolismo secondario delle piante (Balandrin e Klocke, 1985). Essi sono considerati come prodotti di rifiuto del metabolismo primario (Calsamiglia et al., 2007). Sono responsabili dell'odore e del colore delle piante e delle spezie, hanno importante funzione ecologica come messaggeri chimici tra piante e ambiente e spesso esibiscono attività antimicrobica contro una vasta gamma di batteri, lieviti e funghi (Gershenzon e Croteau, 1991). Si ritrovano in numerose specie botaniche tipiche di pascoli e prati polifiti degli ambienti caratteristici dell'allevamento bovino.

#### 2.6.3.4.1 Oli essenziali

Gli oli essenziali sono miscele di metaboliti secondari da frazioni volatili vegetali ottenute per distillazione a vapore (Gershenzon e Croteau, 1991). Il termine essenziale deriva da essenze le quali veicolano odori e sapori (Calsamiglia et al., 2007) e pertanto definite anche composti aromatici. Molti oli essenziali sono dotati di forti attività antimicrobiche (Burt, 2004; Tab.6). Burt ha raggruppato nella sua ricerca i risultati di numerosi autori che indicano proprietà antimicrobiche negli oli essenziali delle seguenti specie botaniche.

**Tabella 6. Oli essenziali con proprietà antimicrobiche, principi attivi coinvolti e microrganismi suscettibili (Burt, 2004).**

OLIO ESSENZIALE DI	NOME VOLGARE	PRINCIPIO ATTIVO	MICROORGANISMI SUSCETTIBILI	RIFERIMENTO
Allium sativum	Cipolla	Allicina, diallile solfito	Batteri enterici patogeni	Ross et al., 2001
Anethum graveolens	Aneto	Limonene, carvone	Batteri Gram-positivi e Gram- negativi	Deans e Ritchie, 1987
Origanum vulgare	Origano	Carvacrolo, timolo	Batteri Gram-positivi e Gram-negativi	Sivropoulou et al., 1996; Dorman e Deans, 2000
Pimpinella anisum	Anice	Anetolo	Aeromonashydrophila, Brevibacterium linens, Brochothrics thermosphacta	Deans and Ritchie, 1987
Thymus vulgaris	Timo	Timolo, carvacrolo	Salmonella typhimurium, Staph. aureus, Aspergillus flavus	Jusen et al., 1994; Ouattara et al., 1997; Mahmoud, 1994



Negli ultimi 8 anni sono state pubblicate numerose ricerche pubblicate sugli effetti di più di 25 differenti estratti vegetali di essenze da pascolo.

Ecco le piante prese in considerazione:

*Achillea millefolium*, *Arnica chamissonis*, *Betula alba*, *Dactylis glomerata*, *Lavandula officinalis*, *Solidago virgaurea* (verga d'oro), *Equisetum arvense*, *Pimpinella anisum*, , *Anethum graveolens*, *Allium sativum*, *Hypericum perforatum*, *Origanum vulgare* e *Armoracia rusticana* (rafano).

Gli estratti di queste piante sono stati posti in fermentazioni ruminali microbiche in vitro da numerosi autori (Broudiscou et al., 2000, 2002; Cardozo et al., 2004, 2005; Mohammed et al., 2004; Busquet et al., 2005c, 2006).

Tra queste troviamo *L. officinalis*, *S. virgaurea*, e *A. millefolium* stimolatrici delle fermentazioni ruminali. *E. arvense*, *A. rusticana*, e *S. officinalis* inibiscono la metanogenesi (Broudiscou et al., 2000, 2002; Mohammed et al., 2004). *A. sativum* modifica la produzione di acidi grassi e il metabolismo azotato (Cardozo et al., 2004, 2005; Busquet et al., 2005c, 2006).

## Timolo

Il timolo è un monoterpene ( 5-methyl-2-(1-methylethyl)phenol; C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O) con forte attività antimicrobica nei confronti di un'ampia gamma di batteri gram-positivi e negativi. Risulta tra i composti contenuti negli oli essenziali, il più studiato e il più importante.

Borchers (1965) è il primo che riporta i potenziali benefici degli oli essenziali nelle fermentazioni ruminali; indica che l'aggiunta di timolo nel fluido ruminale in vitro provoca un accumulo di azoto amminoacidico e minori quantità di azoto ammoniacale, così da suggerire un'azione inibitoria del timolo nei confronti della deaminazione.

Il timolo è contenuto in grandi quantità, seppur variabili nel timo e nell'origano (Sivropoulou et al., 1996; Burt, 2004). Evans e Martin (2000) hanno riportato che il timolo influisce fortemente sul metabolismo energetico di 22 importanti batteri ruminali; tra i più importanti lo *Streptococcus bovis* e il *Selenomonas ruminantium*. Su questi si è visto che è in grado di ridurre la concentrazione di lattato e metano, ad alte dosi deprime la digestione la produzione degli acidi grassi volatili per cui va inibire il metabolismo batterico. A dosi moderate (da 100 a 400 mg/L) incrementa il rapporto acetato/propionato.

Su studi in vitro l'effetto del timolo è dipendente dalla dieta e dal pH (Cardozo et al., 2005; Castillejos et al., 2006). Benchè Castillejos et al. (2006) riporta che il timolo aumenta il rapporto acetato-propionato a pH ruminale elevato (6,4), Cardozo et al. (2005) osserva cambiamenti nella direzione opposta ( una riduzione del rapporto acetato-propionato) quando il timolo è incubato in



fluido ruminale da vacche alimentate a 10:90 come rapporto foraggi:concentrati (basata su mais, frumento, farina di estrazione di soja) nella dieta e pH 5.5.

Pertanto è necessario definire le condizioni sotto cui si vogliono utilizzare questi additivi per modificare le fermentazioni microbiche ruminali nella direzione desiderata.

### Anetolo

L'anelolo (1-methoxy-4-propenylbenzene; C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O) è il principale componente attivo dell'olio di anice (*Pimpinella anisum*) ed è responsabile di un'attività antimicrobica (Davidson e Naidu, 2000).

L'anice è una pianta tipica delle zone temperate. Studi in vitro mostrano sia l'anelolo che l'olio di anice (2.2 mg/L) producono una diminuzione della proporzione di acetato e propionato e incrementano il butirrato. Gli oli non influenzano la concentrazione di azoto ammoniacale, ma bassi dosi di olio d'anice stimolano la degradazione proteica incrementando la concentrazione di peptidi e ammoniaca, senza riportare effetti sul profilo degli acidi grassi volatili.

Comunque quando l'olio di anice è usato nelle fermentazioni in vitro con fluido ruminale di bovine da carne alimentate con 10:90 rapporto foraggi:concentrati e pH ruminale a 5.5, la concentrazione ammoniacale e dell'acetato diminuisce mentre aumenta la quantità di propionato senza influire sulla produzione totale di AGV (Cardozo et al., 2005). Cardozo et al. (2006) usando l'olio di anice nell'alimentazione delle manze in crescita alimentate con 10:90 come rapporto foraggio:concentrato della dieta ha riportato un aumento dell'ingestione di sostanza secca. L'olio di anice diminuisce l'azoto ammoniacale e la concentrazione di protozoi secondo Cardozo et al., (2005). Il pH basso può migliorare gli effetti di alcuni componenti attivi di oli essenziali per il loro cambiamento conformazionale nella struttura e l'alta sensibilità dei batteri a queste molecole (Skandamis e Nychas, 2000).

### Olio essenziale estratto da cipolla

In questo olio essenziale troviamo un largo numero di componenti:

- composti solforici quali il tiosolfinato, allile solfito, glutamilsistone, allicina),
- enzimi
- amminoacidi liberi
- steroli
- steroidi
- triterpenoidi
- glicosidi
- flavonoidi



- fenoli
- composti a base di selenio organico (Lawson, 1996).

L'olio essenziale estratto da cipolla è contenuto in natura nell'apparato aereo di *Allium sativum*. Nei prati troviamo una specie appartenente allo stesso genere, l'erba cipollina (*Allium Schoenoprasum*). I numerosi composti contenuti in quest'olio essenziale esplicano proprietà terapeutiche: antiparassitarie, insetticida, anticancro, antiossidante, immunomodulatrice, antinfiammatoria, ipoglicemica. Ma oltre a queste appena citate troviamo un'attività antimicrobica, ad ampio spettro su batteri gram-positivi e batteri gram-negativi. Studi in vitro dimostrano che la cipolla riduce la metanogenesi (Busquet et al., 2005b), provocando un'inibizione dei microrganismi del genere *Archea*. L'attività antimicrobica è associata in particolare all'allicina (Ankri e Mirelman, 1999).

#### Carvacrolo

Il carvacrolo (2-metil-5-(1-metiletil)fenolo;  $C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$ ) è un composto fenolico simile al timolo e come questo presenta una forte attività antimicrobica. Si trova nell'apparato fogliare della pianta dell'origano (*Origanum spp.*) e del timo (*Thymus spp.*). Busquet et al. (2005c) indica un effetto inibitorio sulla proteolisi e la stimolazione della peptidolisi. Il carvacrolo produce un'azione antimicrobica più forte e non selettiva (Busquet et al., 2005c) nei confronti della popolazione del rumine.

L'attività antimicrobica dei principi attivi contenuti negli oli essenziali in particolare per le strutture fenoliche dei composti con struttura aromatica risulta avere un meccanismo d'azione alternativo e sostituibile per efficacia a quegli degli antibiotici ionofori (Ultee et al., 2002). Questo utilizzo alternativo è già stato sperimentato nei suini e negli avicoli con migliori incrementi giornalieri di peso, lo stesso vantaggio conseguibile con gli additivi antibiotici (Piva e Rossi, 1999; Kamel, 2001), ottemperando quindi alla prevenzione dei disturbi fermentativi finalizzata al miglioramento delle performance produttive nell'allevamento intensivo.



#### 2.6.3.4.2 Tannini

I tannini sono definiti come polifenoli vegetali dotati di importante influenza sul valore nutritivo delle leguminose (Jess e Reed, 1995).

La classificazione dei tannini generalmente li separa in 2 gruppi:

- Tannini idrolizzabili. Sono derivati dall'acido gallico e da alcoli polivalenti. Questi tannini si trovano nella frutta in baccelli, nelle galle delle piante, nelle foglie di arbusti e alberi della zona tropicale. Nei foraggi si ritrovano raramente (Haslam, 1989). La degradazione dei tannini idrolizzabili avviene nell'intestino tenue (McLeod, 1974), dove vengono idrolizzati a zucchero, acido gallico (Bush e Burton 1994) e secondo Dollahite et al. (1962) vengono prodotte sostanze ad effetto tossico nei ruminanti.
- Tannini condensati. Sono proantocianidine, un complesso di oligomeri e polimeri di flavonoidi quali flavon-3-olo, flavon-3,4-dioli e biflavoni nei quali il legame tra flavoni è di solito tra i carboni degli anelli aromatici (Hagerman e Butler, 1991) con peso molecolare da 500 a 3000. Si ritrovano nella maggioranza dei casi in foglie e steli di alcune foraggere quali le leguminose, ma in trifoglio rosso e bianco i tannini condensati si ritrovano solo nei petali dei fiori (Barry, 1985). Aerts et al. (1999) e Molan et al. (2001) indicano un'efficacia maggiore del tannino estratto dal *L. pedunculatus* rispetto a quello del *L. corniculatus*. Pertanto risulta che la struttura chimica del tannino è tipica della specie botanica di provenienza (Min et al., 2003).

#### METABOLISMO DEI TANNINI

L'effetto dei tannini condensati nei foraggi è la risultante di interazioni tra batteri ruminali e proteine vegetali (vedi Fig. 2). Barry e Forss (1983) chiamano i tannini condensati che durante la masticazione si legano con le proteine vegetali, tannini condensati legati, e la rimanente parte di tannini condensati che restano tannini condensati liberi.

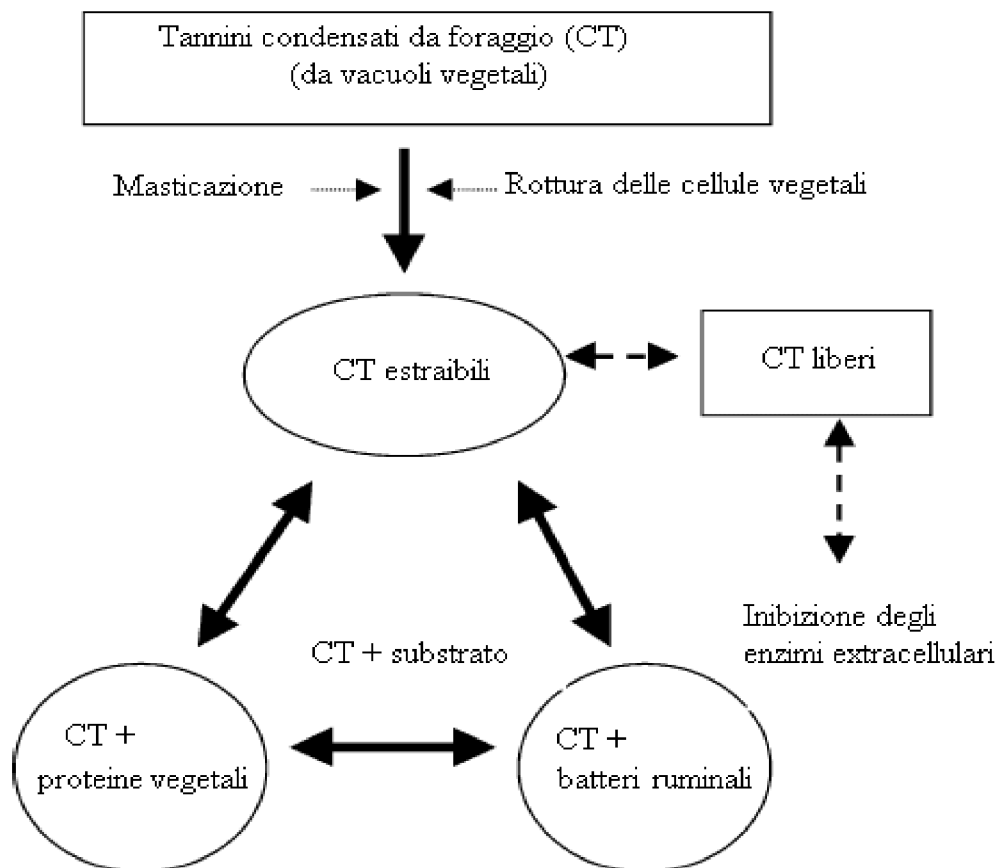
La porzione di tannini condensati liberi può reagire con proteine come enzimi secreti dai batteri ruminali e così inibire la fermentazione dei carboidrati ruminali (Barry e Manley, 1986).

La proteolisi delle proteine solubili è effettuata nel rumine, principalmente da proteinasi associate a cellule dei batteri ruminali (Nugent e Mangan, 1981). Quando i tannini condensati contenuti nei foraggi sono masticati, si formano dei polimeri tra tannini condensati e proteine vegetali (Jones e Mangan, 1994) che vanno a formare delle "cellule cappotto" sulle cellule batteriche (Jones et al., 1994). Pertanto, i tannini condensati nella dieta (presenti in leguminose quali la sanfoina e *L. corniculatus*) mostrano di indurre cambiamenti nella morfologia di parecchie specie di batteri ruminali (Chiquette et al., 1988; Jones et al., 1994).



Le interazioni tra i tannini condensati e cellule batteriche sono meno conosciute delle reazioni tra i tannini condensati e le proteine vegetali. Sono necessari studi per conoscere a fondo le interazioni tra i tannini condensati e i batteri ruminali (Min et al., 2003).

**Figura 2. Effetti dei tannini vegetali nell'ambiente ruminale (Barry e Manley, 1986; Mangan, 1988; Haslam, 1993; Jones et al., 1994).**



Segue la descrizione degli effetti negativi e positivi dei tannini presenti nella dieta dei bovini.

**Effetti negativi**  
INGESTIONE

I tannini possono provocare un calo di ingestione e diminuzione di appetibilità dovuta all'astringenza. L'astringenza è causata dalla formazione di complessi tra tannini e glicoproteine della saliva. Il problema si è verificato nelle pecore alimentate con pascolo ad alto contenuto di Lotus corniculatus. Questa coltura foraggera talvolta presenta elevati contenuti di tannini (più nelle foglie che negli steli). L'effetto negativo sull'ingestione è maggiore negli ovini perché generalmente vanno a selezionare ed ingerire le foglie che sono più ricche in tannini a scapito dello stelo



(Waghorn et al., 1994). Nella specie bovina è stato dimostrato che a contenuto di tannini superiore al 3% della S.S si può avere un calo dell'ingestione (Provenza, 1995) nonché un'influenza negativa sulla digeribilità dell'intera dieta (Silanikove et al., 1997).

### **Effetti positivi**

I tannini sono utilizzati nella conservazione dei foraggi per via della loro capacità di ridurre la proteolisi durante l'insilamento (Albrecht e Muck, 1991). Questo utilizzo è dovuto alle eccessive quantità di NPN contenute a volte in insilati, che risultano dall'attività proteolitica dell'insilamento (Muck, 1991). Una modesta quantità di tannini condensati (dal 2 al 4% della sostanza secca) come quella che si ritrova di norma nel *Lotus corniculatus*, riduce la proteolisi durante l'insilamento e nella fermentazione ruminale per più del 50% (Albrecht e Muck, 1991; Broderick e Albrecht, 1997). Moderati contenuti di tannini nelle erbe assunte dai bovini determinano un migliore utilizzo dell'azoto della dieta (Beever et al., 1989). Concentrazioni di tannini condensati di 20-45 g/kg di S.S nei foraggi (Min et al., 2003) sono associate ad un incremento del flusso di aminoacidi essenziali all'abomaso e un incremento dell'assorbimento intestinale di treonina, valina, isoleucina, tirosina, fenilalanina, istidina e lisina (Waghorn et al., 1987). McNabb et al. (1993) ha osservato un incremento netto dell'assorbimento di metionina e un incremento nell'utilizzazione di cistina nelle pecore alimentate con *L. pedunculatus* addizionato di PEG (sostanza che disattiva le proprietà dei tannini).

Questo fenomeno è dovuto alla capacità dei tannini di legarsi alle proteine e formare dei composti non degradabili a livello ruminale ma disponibili dal tratto intestinale. Il tannino legato alle proteine riduce la proteolisi ruminale e ciò comporta un miglioramento nella conversione dell'azoto ingerito in azoto del latte. I tannini sono una componente presente nell'erba fresca in quantità variabili in base a fattori genetici e ambientali. Caratteristica genetica variabile è la struttura dei tannini, ne consegue una variabilità nella loro efficacia anti-proteolisi (Min et al., 2003).

Il complesso proteina-tannino non è degradabile dagli enzimi dei batteri ruminale, mentre per effetto del pH, nell'abomaso il complesso viene disattivato e le proteine rese disponibili per la digestione e l'assorbimento (Jones e Mangan, 1977; Barry e Manley, 1984).

Ricerche condotte in Nuova Zelanda hanno evidenziato che concentrazioni medie di tannini condensati (tra il 2 e il 2,5% sulla sostanza secca) contenute nel *Lotus corniculatus* hanno migliorato l'utilizzazione proteica, con riduzione delle concentrazioni di ammoniacale nel rumine (-27%) e incremento di assorbimento di aminoacidi essenziali (+50%). Di conseguenza si sono avuti aumenti



nella produzione di latte (+21%), nella crescita della lana (+11%), nell'accrescimento giornaliero (+8%) e nel tasso di ovulazione (+15-30%) senza influenzare l'ingestione (Min et al., 2003).

#### RICICLO DELL'UREA

I tannini possono incrementare l'efficienza di utilizzazione dell'urea riciclata nel rumine. I tannini abbassano il tasso di degradazione e di deaminazione nel rumine e pertanto abbassano il contenuto in NH<sub>3</sub> ruminale (Woodward, 1988).

I tannini possono incrementare il contenuto in glicoproteine e la secrezione salivare e di conseguenza avere più azoto riciclato nel rumine (Robbins et al. 1987). Pecore alimentate con solo *L. pedunculatus* hanno minori concentrazioni di urea nel plasma e minori perdite di azoto rispetto a pecore riceventi *L. pedunculatus* trattato con PEG (sostanza che disattiva i tannini) (Waghorn et al., 1994).

#### EFFICIENZA MICROBICA

Numerosi Autori (Beever e Siddons, 1985; Reed et al., 1990; Barry e Manley, 1984; Egan e Ulyatt, 1980) indicano una migliore efficienza di trasformazione dell'azoto alimentare se questo è contenuto in foraggi dotati di tannino. Un'estensiva e rapida degradazione ruminale delle proteine da foraggi generalmente provoca una diminuzione dell'efficienza di utilizzazione proteica da parte dei microrganismi ruminanti (Glen e Broderick, 1995).

Molan et al. (2000) ha dimostrato che la concentrazione di tannini condensati di 400 µg /ml riduce la crescita di una serie di specie batteriche del rumine. Successivamente Min et al. (2002b) riporta che l'alimentazione a pascolo di *L. corniculatus* (32 g /kg S.S in tannini condensati) consente una riduzione della popolazione dei batteri proteolitici ruminanti *Clostridium proteoclasticum* B316, *Eubacterium* sp. C12b, *Streptococcus Bovis* B315 e *Butyvirbio fibrisolvens* C21.



### 2.6.3.5 Pigmenti fotosintetici

I pigmenti fotosintetici sono elemento distintivo e caratteristico dei foraggi verdi.

Il più evidente e più importante pigmento della pianta è la clorofilla, che gioca un ruolo fondamentale nella fotosintesi. Altro importante pigmento è il carotenoide. Esso svolge minore azione fotosintetica, ma presenta un'importante effetto nutrizionale nei bovini perché è precursore della vitamina A (Britton e Goodwin, 1973). I caroteni si possono considerare pigmenti fotosintetici accessori perché lavorano solo con luce arancio mentre la clorofilla assorbe la luce blu-violetta e rossa (soprattutto il tipo a) e la luce blu ed arancione (soprattutto il tipo b). Sempre Britton e Goodwin (1973) indicano rilevanti le perdite di carotenoidi nel corso della fienagione, già nelle prime 48 h di essiccazione le perdite per respirazione sono oltre il 70%.

A quanto sembra, stando alle mie ricerche la valenza nutrizionale dei pigmenti fotosintetici viene data in esclusiva ai carotenoidi in particolare al  $\beta$ -carotene perché precursore della vitamina A (Britton e Goodwin, 1973). Effettuando ricerche attinenti al ruolo nutrizionale della clorofilla nell'alimentazione dei bovini posso constatare che attualmente non viene riconosciuto alcun effetto alimentare. Nel 1989, Piccioni indica che il valore nutritivo della clorofilla, non è ancora stato appieno compreso e valutato. Vent'anni dopo stando alle mie ricerche la situazione non è cambiata.





## 2.7 EXCURSUS ZOOECOLOGICO DELL'ALIMENTAZIONE NELLA SPECIE BOVINA

Il bovino è il risultato di una evoluzione morfologica influenzata dalla volontà dell'uomo. L'umanità sin dalle epoche più remote ha sfruttato la specie bovina per il suo sostentamento. Nel corso dei secoli l'uomo utilizza la potenzialità di questo animale che compie lavoro, accumula carne e grasso, produce latte alimentandosi di materie prime poco utilizzate da altre specie domestiche. Per tale motivo sin dai tempi antichi la specie bovina divenne l'animale pascolatore per eccellenza. Attraverso l'allevamento l'uomo si è trovato in stretto contatto con la specie bovina creando un legame che continua fino ai giorni nostri. Dalla domesticazione dei ruminanti l'uomo si è posto il problema di poter fornire consistenti quantità di foraggio durante tutto l'anno anche quando avverse condizioni climatiche non consentono lo sviluppo e la crescita delle foraggere e di conseguenza il loro pascolamento. Pertanto l'allevatore utilizza sistemi di conservazione del foraggio quali l'affienamento e l'insilamento in grado di supplire alla penuria di foraggi della stagione di riposo vegetativo.

Quando le popolazioni nomadi diventano popolazioni con agricoltura e allevamento stanziali appaiono le prime strutture per il ricovero dei bovini e l'allevamento stallino. Di generazione in generazione l'uomo ha stabilito la pressione selettiva sui caratteri genetici del bovino, per migliorare le produzioni di carne e di latte, l'attitudine al lavoro, la docilità e l'adattabilità all'ambiente (Balasini, 2003).

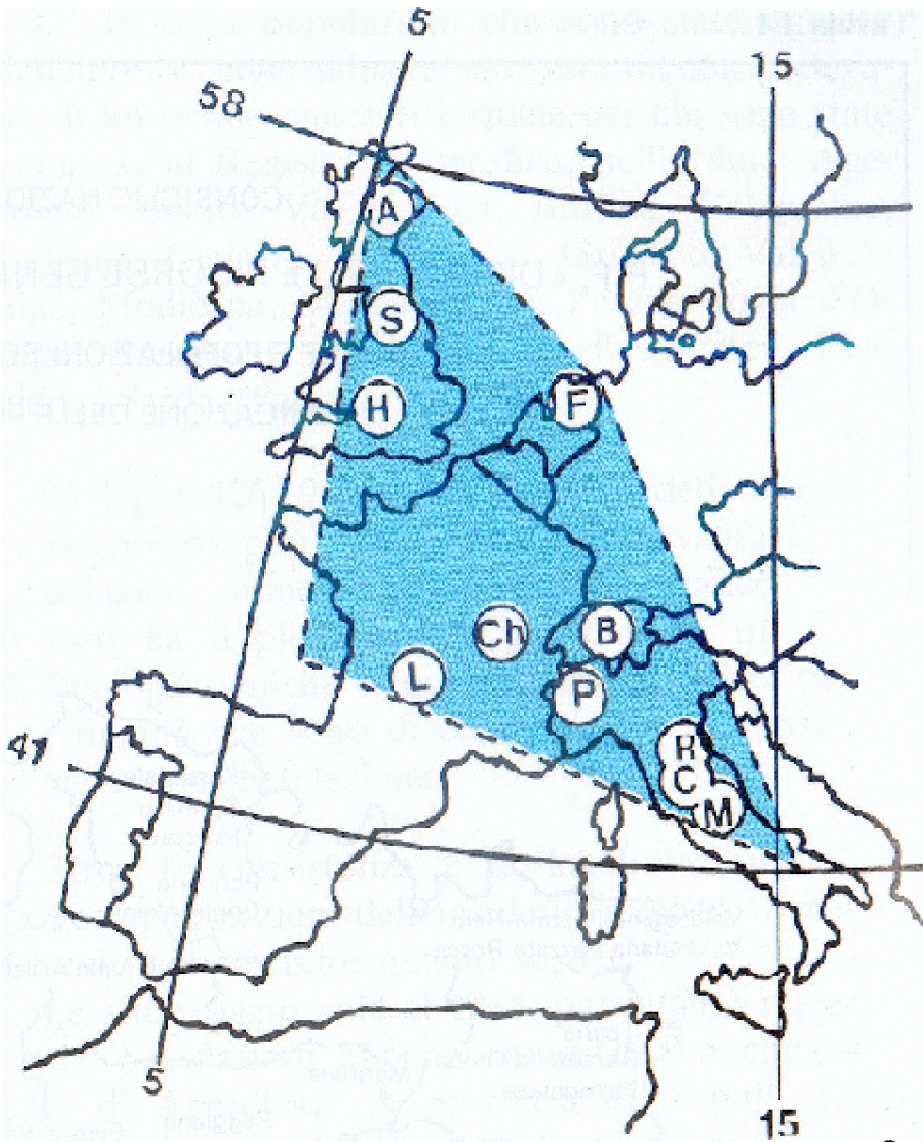
L'azione di selezione ha dato origine alle razze. Intesa come razza un gruppo di individui appartenenti alla specie animale, i quali, omozigoti per uno o più caratteri, si distinguono da altri raggruppamenti della stessa specie animale per alcune particolari caratteristiche morfologiche e funzionali trasmissibili alla prole. Le razze sono in funzione della categoria produttiva scelta e l'areale geografico di allevamento (Borgioli, 1985).

L'adattabilità alle diverse caratteristiche ambientali (alimentazione e clima, prima di tutto) è una delle cause principali che hanno portato alla costituzione di numerose razze del continente europeo (vedi Fig. 3).



**Figura 3. Nel trapezio qui indicato sono nate le più importanti razze bovine allevate oggi nel mondo:**

A = Aberdeen Angus; B = Bruna Alpina; C = Chianina; Ch = Charolaise; F = Frisona; H = Hereford; L = Limousine; M = Marchigiana; P = Piemontese; R = Romagnola; S = Shorthorn. Da Balasini, 2003.



### 2.7.1 Dagli albori della civiltà umana alla metà del XX secolo

Dagli albori della civiltà umana è sempre stato riconosciuto un importante ruolo alimentare al bovino. Da sempre, caratteristica primaria del bovino è l'alimentazione a base di foraggi. Su questa peculiarità della specie bovina si possono elencare delle caratteristiche che hanno contraddistinto buona parte dell'exkursus evolutivo:

- La presenza dell'allevatore. Sin dalla presunta speciazione dall'uro abbiamo la domesticazione del bovino. La specie bovina non si incontra allo stato selvatico ma come specie addomesticata.



- Attitudine pascolativa. Nei secoli la capacità di trarre sostentamento dall'ingestione di foraggi ha costituito la peculiarità della specie. Pertanto all'approvvigionamento alimentare del pascolo viene riconosciuta notevole importanza come fattore di adattamento ed evoluzione della specie.
- Assenza dell'amido nell'alimentazione. Nella storia dell'uomo le fonti di amido non vengono adoperate nell'alimentazione bovina.
- Diffusione europea della specie bovina. Dalla speciazione dell'uro troviamo due specie bovine simili nell'aspetto esteriore, ma con percorso evolutivo svoltosi in regioni geografiche diverse:
  - Il bovino (*Bos taurus*) diffuso nell'ambiente europeo (Lanza et al., 1982), la specie che nella storia e ancora oggi è allevata nel contesto della Pianura Padano-Veneta;
  - Il bovino zebù (*Bos indicus*) diffuso nella regione dell'India e del Nord Africa (Balasini, 2003).

### 2.7.2 Dalla metà del XX secolo ad oggi

La specie bovina nelle varie razze diffuse nei giorni nostri, storicamente si è sviluppata nel continente europeo per poi diffondersi nel resto del pianeta (Balasini, 2003). A partire dalla seconda metà del XX secolo per effetto del progresso della civiltà occidentale è constatabile una notevole intensificazione dei ritmi produttivi e l'introduzione di nuove caratteristiche legate alla bovinicoltura:

- Utilizzo di concentrati. L'aumento delle produzioni agricole ha creato una maggior quota di materie prime alimentari destinabili al settore zootecnico. In contemporanea a questa modificazione, inizia la diffusione dell'alimentazione con concentrati. I concentrati sono materie prime di diversa origine e composizione nutrizionale assenti dal razionamento alimentare bovino fino agli inizi del Novecento.
- Foraggi tropicali nella dieta. Dagli anni '60 nella Pianura padana inizia la foraggicoltura di specie tropicali, in primis il mais, che col passare del tempo diventerà sempre più importante (Vezzaro, 2009).
- Nuovi sistemi alimentari. In sostituzione del pascolo e del foraggiamento verde si d nuovi sistemi alimentari quali il TMR e il sistema con autoalimentatori che progressivamente aumentano a scapito dei sistemi tradizionali di alimentazione.



- Diffusione della conservazione dei foraggi. Storicamente, l'esigenza di conservare i foraggi era legata all'impossibilità di poter usufruire dei prati nella stagione invernale per condizioni climatiche avverse (Fabrica, 2008). L'abitudine di conservare i foraggi acquisisce ulteriori motivazioni oltre alla precedente e progressivamente l'utilizzo del foraggio fresco viene abbandonato.
- Nascita della Bovina da Latte ad Alta Produzione (BLAP). Viene coniato un acronimo che va a identificare la bovina da latte ad alta produzione. Una categoria produttiva di bovine altamente specializzate nella produzione di latte, la cui dieta consta nell'utilizzo massiccio di concentrati e bassi apporti di fibra (Balasini, 2003).



## **2.8. BREVE NOTA SUL COMPORTAMENTO ALIMENTARE DELLA SPECIE BOVINA AL PASCOLO**

In accordo con Langer (1988) possiamo classificare gli erbivori in base alla preferenza alimentare utilizzando la proporzione di erba nella dieta come criterio di classificazione. Langer, in questa classificazione, colloca il bovino come consumatore obbligato di erba fresca.

I bovini mostrano una conscia capacità di selezionare quali erbe ingerire e quali evitare: la teoria della saggezza nutrizionale indica che ogni animale è in grado di bilanciare il proprio metabolismo in base alle necessità nutrizionali (Fraser, 1980).

L'animale impara a riconoscere le erbe buone dalle cattive grazie all'apprendimento dagli animali più vecchi della mandria. Alcune piante sono assunte dall'animale in % minori allo scopo nutraceutico. Erbe che oltre a nutrire, prevengono e curano disturbi fermentativi e altre patologie dell'animale (Rist e Schraegel, 1996).

*Bos taurus*, questo il nome scientifico che identifica la specie bovina, preferisce brucare erba dal sapore dolce rispetto al sapore acido, salato o agrodolce (Fraser, 1980).

La conferma di questa preferenza comportamentale proviene da parecchi studi che indicano la preferenza della bovina per l'erba ad alto contenuto energetico sottoforma di carboidrati non strutturali (Heady, 1964; Mayland et al., 2000b; Ciavarella et al., 2000) i quali conferiscono all'erba un sapore "dolciastro". Inoltre, l'erba che viene assunta più volentieri è ad alta percentuale di digeribilità, a maggior contenuto proteico (Heady, 1964; Tolcamp et al., 1998) e basso contenuto in carboidrati strutturali (Smit et al., 1998). All'avanzare della maturazione la pianta cresce in contenuto di ceneri e fibra (fibra che tende progressivamente a lignificare) a scapito della digeribilità e del contenuto di nutrienti quali carboidrati non strutturali, proteine e acidi organici (Heady, 1964). Pertanto, il foraggio preferito dal bovino essendo ricco di nutrienti ad alta digeribilità, è giovane.

È stata notata una chiara preferenza per le specie foraggere tetraploidi rispetto a quelle diploidi (O'Riordan et al., 1998). Secondo Ciavarella et al. (2000) questa preferenza è da attribuire all'influenza genetica della tetraploidia sulla maggiore concentrazione di carboidrati non strutturali.



## 2.9. ASPETTI QUALITATIVI E QUANTITATIVI NELLA CONSERVAZIONE DEI FORAGGI

La conservazione dei foraggi è una esigenza dettata dall'instabilità climatica poichè l'alternanza delle stagioni impedisce la produzione di erba fresca tutto l'anno (Fabrica, 2008).

Numerose ricerche indicano perdite nutrizionali dal 15 al 100% sulla sostanza secca se il foraggio verde viene affienato (Rotz e Muck, 1994) Nell'insilato le perdite medie sono tra il 14% e il 24% sulla sostanza secca del foraggio verde (Hodgson et al., 1947; Hoglund, 1964; Waldo e Jorgensen, 1981; Wilkinson, 1981; Buckmaster et al., 1990).

### 2.9.1 Quali nutrienti vanno persi con la conservazione?

I carboidrati solubili quali amido ma soprattutto fruttani, glucosio, fruttosio, saccarosio vanno in buona parte persi già nelle prime ore dal taglio a causa della pioggia o della respirazione cellulare (Rotz e Muck, 1994).

La respirazione cellulare dei tessuti vegetali diminuisce progressivamente con la diminuzione del contenuto in acqua (Wood e Parker, 1971). Tutte le sostanze più degradabili sono le più esposte alla perdita attraverso l'ossidazione, e altre forme di degradazione. Di conseguenza la composizione dei foraggi conservati presenta % considerevoli di sostanze meno attaccabili dagli agenti atmosferici, provocando una diminuzione della digeribilità dell'alimento.

Segue una sintesi delle cause di perdita in termini di qualità e quantità che avvengono con le operazioni per la conservazione del foraggio:

- perdite da respirazione cellulare
- perdite da pioggia
- perdite da danni meccanici di attrezzature agricole
- perdite da conservazione del fieno
- perdite da conservazione in silo (Rotz e Muck, 1994).

Le sostanze nutrizionali dell'erba che vanno perse o vanno incontro più frequentemente a trasformazione sono:

- zuccheri
- acidi organici
- vitamine
- enzimi

L'entità delle modificazioni a carico di queste sostanze sono in funzione della tipologia di conservazione.



### 2.9.2 Perdite da conservazione e modificazione qualitativa del fieno

Il fieno per conservarsi come tale sfrutta la stabilità dei componenti nutrizionali data da bassi livelli di umidità nel prodotto inferiore al 15%.

A bassi livelli di umidità, (inferiore al 15%) il foraggio, presenta respirazione ininfluente e se conservato in condizioni opportune avrà perdite di conservazione trascurabili (Rotz e Muck, 1994) e non verrà alterato dai microrganismi, né tantomeno da agenti atmosferici. La perdita qualitativa e quantitativa nel foraggio avviene durante la trasformazione da erba a fieno, con la perdita delle sostanze più degradabili (zuccheri, acidi organici, vitamine ed enzimi) favorendo l'aumento del contenuto in % delle sostanze più resistenti alla degradazione, che sono anche le meno digeribili.

### 2.9.3 Perdite da conservazione e modificazione qualitativa dell'insilato

L'insilato per conservarsi come tale utilizza principi diversi da quelli del fieno.

Il foraggio viene posto in condizioni di anaerobiosi e viene interessato da una serie di fermentazioni che hanno come obiettivo:

- la stabilizzazione del foraggio per avere una composizione nutrizionale costante nel tempo;
- l'ottenimento di un prodotto salubre e il più rispettoso possibile della fisiologia ruminale.

Come già detto pocanzi, tra le sostanze nutrizionali che vengono maggiormente sconvolte durante le fasi che portano alla conservazione troviamo gli acidi organici e i carboidrati non strutturali, in particolare gli zuccheri. Gli acidi organici possono costituire fino al 10% sulla sostanza secca, mentre gli zuccheri arrivano fino al 20% della composizione del foraggio. Entrambi i composti sono facilmente degradabili, prontamente disponibili nel caso dell'assunzione di erba verde. Se consideriamo l'insilato vediamo che questi composti per effetto della loro elevata degradabilità sono velocemente utilizzati dalla flora microbica presente naturalmente nel foraggio o introdotti sottoforma di inoculo dall'operatore.

Gli acidi organici nell'insilato vengono utilizzati come substrati energetici dalla flora microbica (vedasi tab. 7) che per via fermentativa derivano principalmente prodotti di fermentazione quali acetato, CO<sub>2</sub>, e butirato (Mc Donald, 1981).

Gli zuccheri (fino al 20% sulla S.S.) vengono con prontezza e facilità utilizzati nell'insilato dalla flora microbica come importante fonte energetica.



**Tabella 7. Principali reazioni nella fermentazione lattica dell'insilato (Van Soest, 1994).**

**a: se l'NH<sub>3</sub> non viene riutilizzata.**

PRINCIPALI REAZIONI NELLA FERMENTAZIONE LATTICA DELL'INSILATO	PERDITE ENERGETICHE IN NUTRIENTI (in %)
<b>Carboidrati</b>	
Glucosio ----> acido lattico + etanolo+CO <sub>2</sub>	24
3 fruttosio ---> acido lattico + acido acetico +2 mannitolo +CO <sub>2</sub>	5
<b>Acidi organici</b>	
Acido malico ---> acido lattico + CO <sub>2</sub>	33
2 acido malico ---> acetoina + 4 CO <sub>2</sub>	67
acido malico ---> acido acetico + acido formico + CO <sub>2</sub>	21
2 acido citrico ---> 2 acido acetico + acetoina + 4 CO <sub>2</sub>	46
acido citrico ---> 2 acido acetico + acido formico + CO <sub>2</sub>	14
2 acido citrico ---> 3 acido acetico + 1 acido lattico + 3 CO <sub>2</sub>	30
<b>Amminoacidi</b>	
2 serina ---> acetoina + 2 CO <sub>2</sub> + 2 NH <sub>3</sub>	42; (58)a
arginina ---> ornitina + CO <sub>2</sub> + 2NH <sub>3</sub>	5; (24)a

Acidi organici e zuccheri dell'erba contribuiscono durante il decorso fermentativo ad aumentare le percentuali di acidi, determinando una caduta del pH nel foraggio conservato a valori di circa 3,8. All'aumento della concentrazione degli acidi nell'insilato e alla contemporanea caduta del pH sussegue una scarsa attività microbica, dovuta al pH basso, troppo lontano dagli optimum di crescita delle popolazioni microbiche dell'insilato utili e dannose che siano; questo provoca l'arresto delle fermentazioni e la conservazione dei principi nutritivi del foraggio.

La composizione dell'insilato si differenzia da quella dell'erba per una alta concentrazione di acidi di costituzione diversa da quelli dell'erba. Nell'insilato forte è la presenza dell'acido lattico (tra il 3 e il 12% - McDonald, 1992 -) seguita da una presenza minore di acido acetico (tra il 3 e il 5% - McDonald, 1992-) e minime quantità di CO<sub>2</sub>. L'alimento verde, direttamente assunto dalle bovine contiene fino al 10% di acidi organici e fino al 20% di zuccheri che vanno a costituire un importante substrato energetico ottimale per le fermentazioni operate dai microrganismi, prevalentemente anaerobi che popolano il rumine.





Gli acidi organici contenuti nell'insilato, sono il risultato di fermentazioni avvenute in precedenza. Tali prodotti di fermentazione non si possono considerare substrati energetici per i microrganismi del rumine, perché essi sono prodotti di escrezioni di altri microrganismi anaerobi simili per classificazione tassonomica (Van Soest, 1994).



## 2.10 PROPRIETÀ ALIMENTARI DEL SILOMAIS

Il silomais è il trinciato integrale della pianta del mais (*Zea mais*, L.), tagliata a maturazione cerosa e conservata con fermentazione lattica in silos del tipo orizzontale.

In buona parte degli allevamenti bovini del nord Italia, costituisce la base foraggera della razione alimentare. Le caratteristiche alimentari di questo foraggio non sono standardizzabili, ma si possono indicare dei range di riferimento, fondamentali per comprendere quale spazio e utilità possa avere nel razionamento.

Ritengo opportuno riportare la composizione qualitativa e quantitativa dei carboidrati (vedasi tab. 8) per avere quel materiale su cui trarre una discussione in merito ai disturbi fermentativi, in primis l'acidosi ruminale.

**Tabella 8. Composizione nutrizionale dei carboidrati fibrosi e non fibrosi del silomais (modificata, da Formigoni et al., 2007).**

COMPOSIZIONE	CONCENTRAZIONE (in %)
Fibra neutro detersa (NDF)	38-55
Lignina	1,5-5
NDF non disponibile	3,6-12
Fibra solubile	8-5
Acidi grassi volatili	5-7
Zuccheri	1-5
Amido	24-35



### 3.DISCUSSIONE

#### 3.1 BIODIVERSITÀ

La descrizione nutrizionale pubblicata dal Mac Donald (1992) e riportata al 2.5.2.2 esemplifica quanto sia ricca e variegata la composizione glucidica dell'erba. Esemplifica perché fa capire quanto siano le erbe qualitativamente ricche in biodiversità per i glicidi. Tale biodiversità, contenuta nelle erbe soprattutto giovani è persa con le normali tecniche conservative dei foraggi.

Sorge spontaneo chiedersi se tanta biodiversità possa avere un significato nutrizionale nell'alimentazione dei ruminanti; se è possibile relazionare la mancata presenza di questa biodiversità nelle tradizionali diete di allevamento, con l'insorgenza dell'acidosi e degli altri disturbi fermentativi. La biodiversità nell'erba non riguarda la sola famiglia dei glicidi ma anche per altri nutrienti contenuti nell'erba. La composizione di un foraggio da pascolo che risponde al meglio alle necessità fisiologiche dei bovini contiene una notevole biodiversità. Essa presenta un rapporto 45:40:15 rispettivamente tra erba di graminacee, foraggio di leguminose ed erbe aromatiche (Rist e Schraegel, 1996).

Al primo impatto con facilità si potrebbe sottovalutare la biodiversità che caratterizza l'erba, in quanto unico componente della dieta del bovino al pascolo. È più logico e facile pensare ad una maggiore biodiversità in una dieta di allevamento intensivo perchè formata da numerose materie prime molto diverse fra loro (farine di cereali, farine di proteaginose, foraggi di leguminose o di graminacee, ecc. ). Ma se analizziamo un pascolo naturale dell'habitat tipico della specie bovina quali le pianure della Frisia olandese, le colline della Limousine o l'ambiente alpino della Svizzera, scopriamo che la composizione botanica è così variegata da classificare il pascolo come oligofita o nella maggioranza dei casi polifita. Quindi da poche (3-4) a tante (10-15) le specie botaniche che costituiscono il pascolo naturale. Ciascuna specie botanica del pascolo presenta composizione chimico-fisica che a prescindere dai fattori ambientali è caratteristica. A testimoniare la complessità della composizione nutrizionale dell'erba troviamo i fruttani che caratterizzano la specie foraggera, essendo specifici per struttura in base all'erba.

Non è lecito pensare che una complessa e numerosa biodiversità in termini di componenti nutrizionali sia necessaria per l'ambiente ruminale, anch'esso predisposto ad una spiccata biodiversità con le numerose specie in esso presenti, così da creare un equilibrio fondamentale per preservare il ruminante da gravi dismetabolie come l'acidosi ruminale.



### 3.2 LE MOTIVAZIONI DI UN APPROCCIO ZOOECOLOGICO NELLA TERAPIA DEI DISTURBI FERMENTATIVI

I ruminanti devono il loro successo evolutivo allo sviluppo di una specializzazione dell'attività digestiva che consente loro di utilizzare larga parte dell'enorme quantità di carbonio organico contenuta nei polimeri vegetali, (Mariani e Podestà, 1996) all'interno di un organo, assai rilevante per la fisiologia del bovino.

Il biochimismo e la microbiologia delle popolazioni microbiche del rumine non sono conosciute a fondo per via della loro natura assai complessa e un profondo grado di biodiversità che permette l'adattamento a numerose condizioni alimentari. L'intervento dell'uomo sull'alimentazione dei ruminanti certifica la predisposizione dei bovini, ad una forte adattabilità alimentare. Questa adattabilità è consentita dalla caratteristica anatomica principale dei ruminanti, la presenza del rumine. La crescita di una specie batterica a scapito di altre permette l'adattabilità alimentare.

Nel regno Animalia il bovino è tra i pochi animali domestici che nelle condizioni di allevamento viene alimentato con materie prime che in natura non dispone e non assimila in nessuna circostanza. Nelle classificazioni zoologiche il bovino è considerato un erbivoro obbligato, che vive in pratiscolo della zona temperata (Van Soest, 1994). Nonostante questa predisposizione evolutiva della specie *Bos taurus*, oggi, il bovino in condizione di allevamento non ritrova nella composizione della sua dieta l'erba, che costituisce la dieta in natura. In aggiunta trova nella sua alimentazione quotidiana alimenti che non ha mai ingerito in natura e sono ben lontani dalle caratteristiche chimico-fisiche della loro base nutrizionale naturale:

- Farine di cereali. Utilizzate per l'elevato come fonte energetica sottoforma di amido, polisaccaride assente nelle erbe dei pascoli europei.
- Farine di proteaginose. Costituiscono fonte proteica per via dell'elevato contenuto in amminoacidi e in proteina.
- Foraggi tropicali. Si possono distinguere dalle erbe dei climi temperati per la fibra che è meno digeribile e per la presenza dell'amido, come sostanza energetica di riserva.
- Sottoprodotti industriali. Gruppo disomogeneo per caratteristiche nutrizionali e modalità di conservazione.

Malgrado la mancanza del foraggio verde e la presenza di alimenti non convenzionali, il ruminante detiene performance produttive, sottoforma di carne e/o latte (in base all'habitus dell'animale, iperossidativo o ipossidativo) di proporzioni qualitative e quantitative ragguardevoli.

Rotz e Muck (1994) giustificano l'utilizzo dei foraggi conservati in sostituzione del foraggio fresco nel periodo di riposo vegetativo dei prati. Quest'affermazione del 1994 non rispecchia



assolutamente il sistema alimentare che oggi si adotta nel comprensorio zootecnico bovino della pianura padana. L'affermazione del Rotz e del Muck rispecchia la situazione italiana della zootecnia tradizionale fino al dopoguerra. L'allevatore forniva foraggio fresco o pascolo per tutto l'anno ad eccezione della stagione invernale, nella quale suppliva l'esigenza di foraggio con insilati e fieni prodotti durante la stagione di crescita (Fabrica, 2008). Le testimonianze storiche degli allevatori indicano che dagli anni '50 l'incremento dell'utilizzo dei foraggi conservati. Col passare degli anni c'è stata una drastica riduzione dell'utilizzo di erba fresca: il foraggiamento verde e il pascolo progressivamente perdono di importanza, sino a diventare al giorno d'oggi, nel contesto della pianura padano-veneta prossimi al disuso.

L'alimentazione in zootecnia bovina è fortemente manipolata dalla mano dell'uomo. È evidente la grande differenza tra gli alimenti costituenti la razione al pascolo e la razione che grossomodo troviamo negli attuali sistemi alimentari di allevamento. La prima alimentazione è esclusivamente a base di erba, la seconda presenta una lunga lista di possibili materie prime che presentano caratteristiche chimico-fisiche molto diverse da quelle dell'erba. Pertanto la discordanza tra le due diete risulta evidente.



### 3.3 LA FIBRA NELL'ALIMENTAZIONE DEI BOVINI

La fibra è un elemento nutritivo considerato essenziale nella dieta dei ruminanti perché indispensabile nei processi digestivi che si svolgono nel rumine. Molti studi ritengono importante tenere in considerazione nella formulazione delle diete per ruminanti il rapporto foraggi:concentrati altri ancora ritengono indispensabile un adeguato livello di NDF, il problema in entrambi i casi è inserire un adeguato quantitativo di fibra in razione. La fibra è da molti anni oggetto di ricerca, per la fondamentale azione sul corretto funzionamento della digestione dei ruminanti.

L'alimentazione attuale dei bovini si scontra con le esigenze fisiologiche del rumine in quanto spesso è deficitaria in contenuto di fibra.

La fibra è considerata come componente necessaria della razione del ruminante ma anche come ingombro, che limita le performance produttive.

È necessaria, per via della sua funzionalità digestiva: il bovino ruminante stando alle attuali ricerche non possiede capacità digestive per una razione senza fibra. D'altronde, nel ruminante la carenza di fibra o l'assenza, provoca in primis diminuzione dell'ingestione di sostanza secca e a seguire una serie di disturbi che impediscono il normale assorbimento delle sostanze nutritive. Spesso la carenza di fibra in razione è associata all'utilizzo massiccio di notevoli quantità di materie prime ad alto contenuto di energia prontamente disponibile come ad esempio la farina di cereali quali mais e orzo. La carenza di adeguati livelli di fibra e la forte presenza di carboidrati da concentrati, vengono visti spesso come il fattore che causa l'acidosi ruminale.

La fibra viene vista spesso come un ingombro: perché limita le performance produttive. Ciò è vero se si usa fibra indigeribile perché essa toglie nella dieta lo spazio di inserimento per maggiori quantità di concentrati energetici.

Nell'alimentazione dei bovini la fibra è fornita dai foraggi, di qualità variabile in base al sistema alimentare: nel pascolo la fibra è sostanzialmente diversa rispetto alla fibra adoperata nel sistema unifeed tanto e si può distinguere con una diversa valenza funzionale:

- Valenza nutrizionale. Nei ruminanti la fibra grazie a particolari processi biochimici e meccanici viene degradata e trasformata in energia disponibile per il sostentamento delle attività metaboliche. La fibra del foraggio non è tutta disponibile per essere degradata e trasformata in energia: quella utilizzata dal bovino perché degradabile è definita a valenza nutrizionale.

Questa fibra è presente a valori massimi nel pascolo, sottoforma di pectina, emicellulosa e cellulosa e scarsi livelli di lignificazione.



- Valenza tampone. Attraverso la ruminazione le particelle fibrose presenti all'interno del bolo alimentare vengono masticate e insalivate. La salivazione svolge un effetto tampone che provvede all'equilibrio acido-base del rumine. Nella prevenzione e nella cura dell'acidosi ruminale viene considerata positiva l'azione terapeutica della fibra -se questa presenta adeguate dimensioni e struttura- perchè induce una maggiore salivazione, di conseguenza un'azione tampone sul pH del rumine. Purtroppo la fibra che va a stimolare un aumento della salivazione presenta una ridotta digeribilità rispetto alla fibra con valenza nutrizionale, perchè ricca in incrostazioni di lignina che vanno a deprimere la digeribilità del foraggio. L'azione terapeutica di una maggior salivazione è paragonabile a quella indotta dall'utilizzo del bicarbonato di sodio e di altri additivi alimentari comunemente indicati come tamponi.

La relazione tra valenza nutrizionale e valenza tampone della fibra è contrastante: all'aumentare della prima si riduce la seconda e viceversa. Questo aspetto comporta nelle attuali tecniche di razionamento alimentare la tendenza ad introdurre in razione fibra a valenza nutrizionale e a valenza tampone. Si cerca un compromesso per soddisfare l'esigenza energetica dell'animale e la necessità di tamponare il pH ruminale, che tende a scendere a causa della fermentazione dell'amido. A peggiorare il deficit energetico del bovino in allevamento intensivo troviamo la quota di fibra a valenza tampone. Questa fibra dal punto di vista nutrizionale fornisce scarsa energia ma nel contesto alimentare dell'allevamento intensivo ha un ruolo importante, perchè aiuta la correzione di un problema causato dall'amido della razione. Nel contesto alimentare dell'habitat naturale bovino, la fibra a valenza tampone ha scarsa importanza: la bovina evita questa fibra per la sua scarsa appetibilità e lo scarso valore nutritivo preferendo quella più appetibile perchè a maggiore valenza nutrizionale. L'Allevatore utilizza l'opportunità terapeutica della fibra a valenza tampone, ma vengono però poco considerate le caratteristiche negative che una scelta di questo tipo comporta:

- Scarsa digeribilità. La fibra a valenza tampone è ricca di incrostazioni di lignina che riducono la digeribilità del foraggio. Costituisce un ingombro alimentare: toglie spazio in razione a componenti nutrizionali assimilabili.
- Scarsa appetibilità. Il bovino preferisce i foraggi giovani e poco lignificati, quindi ad elevato valore nutrizionale. La fibra a valenza tampone è poco appetibile, pertanto provoca la riduzione dell'ingestione alimentare.

La fibra nell'alimentazione d'allevamento presenta una valenza tampone superiore alla fibra dell'alimentazione della specie bovina in natura, viceversa nell'alimentazione al pascolo la fibra presenta una valenza alimentare superiore alla fibra dell'alimentazione d'allevamento. Questa



contraddizione deriva dalle esigenze organizzative dell'uomo che si contrappongono alle necessità alimentari del bovino. L'uomo decide di sfalciare i foraggi secondo un modello che tiene in considerazione la convenienza economica in relazione alla quantità di energia e proteina raccolta ad Ha, il costo dell'operazione colturale e in misura marginale tiene conto delle preferenze alimentari della specie bovina. Mentre l'allevatore esamina "attentamente" quale sia la frequenza migliore di sfalcio in grado di ottimizzare l'utilizzo dei fattori produttivi, il bovino nel suo ambiente naturale "sfalcia" e ingerisce l'erba quando è più appetibile, e a quanto pare l'appetibilità del foraggio è in relazione alla ricchezza in nutrienti digeribili. Pertanto maggiore è l'appetibilità del foraggio, maggiore sarà l'apporto nutrizionale.





### **3.4 IL RUOLO FONDAMENTALE DEL COMPORTAMENTO ALIMENTARE NELL'EZIOLOGIA DEI DISTURBI FERMENTATIVI**

Fraser (1988) indica che la bovina possiede la capacità di scegliere, e manifesta preferenze all'atto dell'assunzione alimentare. Fondamentale importanza riveste l'esperienza maturata nel corso della vita dell'animale (Fraser, 1988). Può capitare che una bovina venga accidentalmente a contatto con un sacco di farina o un sacco di urea; alimenti molto appetibili per l'animale ma che possono provocare disturbi digestivi gravi. La bovina dopo aver ingerito per via dell'elevata appetibilità buona parte del sacco di farina avvertirà i sintomi responsabili dell'acidosi ruminale acuta. Questa bovina, superata la crisi provocata dalla patologia, alla prossima visione di un sacco di urea o di farina eviterà l'assunzione, conscia dell'elevato rischio di indigestione. Lo stesso fenomeno è presumibile nei pascoli con le erbe contenenti alcaloidi tossici. È ovvio collegare questa predisposizione dell'animale alla necessità di mantenersi in uno stato sanitario normale. È improbabile pensare che la bovina operi una selezione alimentare non correlabile al mantenimento del proprio benessere.

L'allevamento bovino nella Pianura padana utilizza il sistema unifeed come sistema alimentare d'elezione. Tra le sue caratteristiche tale sistema impedisce l'istintiva capacità selezionatrice dei componenti della dieta. L'allevatore può così alimentare le sue vacche con alimenti, ad esempio i foraggi scadenti, non assunti spontaneamente dalla bovina. Come già detto, la bovina per la sua capacità istintiva seleziona quali materie prime assumere e quali no. La vacca con il sistema unifeed può scegliere, ma in misura notevolmente ridotta rispetto a quello che accade nel pascolo. La vacca viene ingannata perché è costretta ad assumere alimenti scadenti, mascherati da altri di qualità migliore. Senza la spontanea opportunità di scelta, la vacca è predisposta alle tecnopatie, come ad esempio l'acidosi ruminale.



### 3.5 IL FORAGGIAMENTO VERDE

Tra le varie categorie di foraggi, il valore nutritivo massimo in termini quantitativi e qualitativi si può avere nei foraggi freschi, per l'assenza di perdite da conservazione che caratterizzano gli insilati e i fieni.

È paradossale notare come nella zootecnia di oggi venga trascurata la possibilità di sviluppare un'alimentazione dei ruminanti basata sull'erba fresca. Da quanto illustrato nei precedenti capitoli è comprensibile quanto possa essere interessante l'utilizzo dei foraggi freschi per la prevenzione e la cura delle dismetabolie tipiche degli allevamenti intensivi. A quanto pare, gli Alimentaristi e i Veterinari vedono l'utilizzo di foraggi freschi molto scomodo per l'Allevatore.

In ambito di ricerca tecnico-scientifica, non sono state mai proposte migliorie gestionali, tali da cambiare la situazione attuale in tal senso. L'utilizzo dei foraggi nella pratica attuale dell'allevamento intensivo bovino è in funzione delle tecniche di conservazione quali l'insilamento e la fienagione e la loro più o meno corretta effettuazione.

È pertanto negli attuali sistemi zootecnici assai improbabile parlare di introduzione di foraggio verde nella tecnica unifeed. Il foraggiamento verde nella situazione attuale non è applicabile nella bovinicoltura intensiva per una serie di motivi:

- Mancanza di strumentazione in grado di valutare con tempestività e con un adeguato grado di precisione il contenuto nutritivo del foraggio fresco. Valutare velocemente e con precisione la composizione nutrizionale del foraggio fresco è fondamentale per un corretto razionamento perché il valore nutrizionale del foraggio è in continua evoluzione. Pertanto, il monitoraggio della composizione nutrizionale dell'erba è necessario per individuare quando il foraggio possiede le caratteristiche ottimali per procedere allo sfalcio. Affinché si possa ottimizzare la produzione dell'erba in funzione dello stadio vegetativo corrispondente alla miglior efficienza di trasformazione dell'alimento.

- Condizioni pedo-climatiche inopportune per il calpestio delle coltivazioni foraggere. Pioggia e altre precipitazioni atmosferiche spesso rendono impraticabili i terreni coltivati, impedendo il foraggiamento verde. In zootecnia, nella corretta gestione alimentare è impensabile sostituire alimenti in modo brusco e transitorio, pertanto è necessaria una certa continuità nella somministrazione degli alimenti, rendendo inopportuna situazione climatiche transitorie di elevata piovosità;

- Condizioni pedo-climatiche inopportune per la crescita vegetativa dell'erba. Numerose fasce climatiche della Terra sono caratterizzate da stagioni invernali con clima rigido che impediscono la crescita vegetativa delle foraggere. L'avversa stagione invernale sono fattore



limitante per la produzione di foraggio verde, e pertanto obbliga nei mesi invernali ad irrinunciabili alternative ai foraggi freschi quali i fieni e gli insilati. Storicamente, il problema è stato in parte risolto utilizzando le marcite. Le marcite sono un tradizionale sistema di irrigazione a sommersione diffuso nella realtà zootecnica lombarda che consentono la raccolta dell'erba da fine febbraio a metà novembre;

- Condizione pedo-climatiche inopportune per l'assunzione alimentare del foraggio verde. Il foraggio verde quando è umido e/o freddo è ritenuto nella corretta gestione alimentare non utilizzabile perché provoca nei bovini dismetabolie gravi (ad esempio, meteorismo), in particolare nel caso di foraggiere leguminose assunte dai bovini in purezza (Bittante et al., 1991)

Nella realtà zootecnica attuale il foraggiamento verde, per la serie di motivazioni qui sopra descritte è un sistema alimentare poco considerato.

Nel passato, come enunciato qui sopra si è risolto in parte il problema, con le marcite. Nella realtà delle marcite lombarde, l'inizio dell'utilizzo delle produzione foraggera si può comodamente sovrapporre all'inizio della lattazione, la fase produttiva della bovina più sensibile a disturbi fermentativi e conseguenti cali di performances produttive. È quindi spontaneo chiedersi se non è possibile nell'era del progresso della tecnica e della tecnologia, trovare un sistema che possa favorire il foraggiamento verde, per buona parte dell'anno come già accadeva in passato con le marcite lombarde. Ricordo come nella realtà della zootecnia da latte la necessità di un elevato input nutrizionale sia collegato alla lattazione, mentre nel bovino da carne questo fondamento è assente perché la produttività è continua. Analizzando le necessità nutrizionali della zootecnia da latte, possiamo notare che la ridotta disponibilità di foraggio verde penalizza in minor misura la produttività nella fase di asciutta rispetto alla fase di lattazione. Una mandria di bovine da latte con fertilità regolare e con intervallo parto-concepimento regolare (circa 90 gg), parti stagionali sincronizzati nella stagione primaverile può sfruttare appieno l'intera stagione di crescita vegetativa dei prati, minimizzando i giorni di mancato foraggiamento verde e ricorrendo all'uso dei foraggi conservati nella sola stagione invernale.

Focalizzando sulla necessità di risolvere disturbi fermentativi tipici dell'allevamento intensivo in primis l'acidosi nella forma cronica e subacuta, il foraggiamento verde rappresenta una possibilità da non sottovalutare. È un sistema alimentare da rivedere e da riportare in studio, oggi dimenticato e sottovalutato. Sottovalutato nella stessa misura di come è stata, negli ultimi decenni sottovalutata e incompresa la naturale fisiologia bovina del rumine con le sue straordinarie possibilità di utilizzazione dei carboidrati strutturali, incomparabile con nessun'altra specie mammifera terrestre



### 3.6 IL SILOMAIS COME BASE FORAGGERA: RIPERCUSSIONI SULLE DISMETABOLIE

Il silomais è divenuto a partire dal dopoguerra, la base alimentare della zootecnia bovina italiana: per un favorevole rapporto valore energetico/costo è ormai l'ingrediente prevalente delle razioni per bovine da latte ad alta produzione raggiungendo spesso inclusioni del 40-50% della S.S della razione. La larga diffusione delle coltivazioni di mais situate nella Pianura Padana viene destinata per buona parte all'alimentazione dei bovini sottoforma di farine, pastoni ma soprattutto di silomais. Si utilizza il silomais come base foraggera degli allevamenti intensivi per una serie di vantaggi che oggi riesce trarre più di qualsiasi altra coltura foraggera:

- Organizzazione aziendale. La coltivazione del silomais contribuisce a semplificare il management aziendale, perché necessita di pochi interventi colturali; la raccolta avviene in unico passaggio massimizzando le quantità di massa verde raccolta in pochi giorni di lavoro. Questa semplificazione mancava prima del silomais: la raccolta del foraggio da prati e altri erbai attraverso lo sfalcio avveniva ogni 25-30 gg, a seconda dei ritmi di crescita dei foraggi, con una quantità di interventi colturali ben superiore a quella che ritroviamo con la coltura del silomais;
- Progresso ingegneristico. La meccanizzazione agricola ha favorito una diminuzione dei tempi di lavoro e il numero di unità lavorative in tutto il ciclo colturale, dalla semina alla raccolta.
- Interessi economici. Le aziende sementiere hanno svolto un'intensa azione di marketing per diffondere questa coltura che necessita nel ciclo colturale di numerosi input produttivi. Per le necessità colturali (trattamenti fitosanitari e fertilizzazioni) numerosi sono i canali commerciali che traggono utile.
- Caratteristiche nutrizionali. Il silomais svolge un importante ruolo alimentare nelle razioni: fornisce elevate quote di fibra e amido. Il valore energetico complessivo è fornito per buona parte da amido e fibra per circa 1450 kcal di energia netta (En) di lattazione/kg S.S. Tuttavia, anche questo foraggio è soggetto a variazioni di composizione dovute a fattori varietali (varietà a diversa classe di maturazione, varietà stay-green, ecc.) e ambientali (tecnica colturale, andamento meteorologico, epoca e modalità di raccolta, ecc.) che possono condizionare in modo apprezzabile le sue caratteristiche nutrizionali (Spanghero et al., 2004).

Il nutrimento che un ruminante può trarre da questo alimento è elevato. Malgrado ciò si deve considerare che la fonte energetica di un foraggio tropicale quale il silomais è per costituzione diversa da quella normalmente contenuta in foraggi dei climi temperati.



La pianta del mais è ricca in fibra con scarsa valenza nutrizionale e elevata valenza tampone, e contiene fibra molto più resistente alla digestione rispetto a quella contenuta nell'erba dei climi temperati. Come tutti i foraggi tropicali anche il mais presenta una minor digeribilità della fibra. La fibra ricca di lignina svolge un'azione di sostegno della parte aerea della pianta, per scongiurare il fenomeno dell'allettamento diffuso in piante di grande taglia come il mais, evolute in clima soggetto a violente precipitazioni atmosferiche. Il quantitativo energetico del mais ceroso migliora grazie alla presenza delle pannocchie, spighe su cui maturano cariossidi ricche in amido; le stesse pannocchie provocano la necessità di fibra strutturale di sostegno nella pianta per via del loro elevato peso.



### **3.7 I TANNINI SCONGIURANO IL RISCHIO DI ALCALOSI RUMINALE PER LA SPECIE BOVINA AL PASCOLO**

L'aggiunta di tannini all'atto dell'insilamento è pratica già sperimentata per il foraggio di erba medica: riduce la proteolisi e diminuiscono le esalazioni ammoniacali del foraggio dannose per la qualità dell'insilato e per l'alimentazione del bestiame (Colombari et al., 2005).

I tannini sono sostanze che svolgono una chiara e ben definita attività nella fisiologia del ruminante. L'azione dei tannini nell'alimentazione è benefica per il decorso delle fermentazioni ruminali. Nelle erbe da pascolo è stata ormai confermata l'importante azione dei tannini condensati per diminuire la proteolisi nel rumine e favorire il by-pass ruminale di una parte delle proteine dell'erba.

La presenza di tannini nei foraggi, stando alla ricerca disponibile in bibliografia, è poco considerata negli attuali razionamenti dei bovini malgrado possa ridurre la proteolisi ruminale fondamentale per la prevenzione dell'alcalosi ruminale.

Il controllo della proteolisi a livello ruminale, in allevamento è affrontato con trattamenti tecnologici alle farine proteiche, nell'ambiente naturale, è superato dalla presenza del 2-2,5% di tannini sulla S.S che compone la dieta, vale a dire il foraggio verde del pascolo.



#### 4. CONCLUSIONI

I disturbi fermentativi che affliggono la zootecnia italiana, sono riconducibili ad un sistema alimentare dissimile dall'istintiva capacità alimentare dei ruminanti. I cantieri necessari per la conservazione dei foraggi, provocano numerose perdite qualitative con profonde modificazioni al prodotto finale. Può bastare un'analisi visiva per intuire una sostanziale differenza del prodotto conservato, insilato o fieno che sia, dal prodotto di partenza, l'erba. L'attuale sistema alimentare adotta una base foraggera composta da foraggi conservati e un'integrazione di concentrati vale a dire un mix di farine di varia natura, su cui si basa la nutrizione degli allevamenti intensivi bovini. Questa scelta alimentare non considera i composti nutritivi che si ritrovano nell'erba visto che all'atto dell'essiccazione o insilamento, taluni vanno persi. Stando ai risultati della ricerca scientifica, questi composti presentano un'azione preventiva e terapeutica sui disturbi fermentativi. È quindi possibile un ritorno all'utilizzo dei foraggi freschi. Considerata una razione contenente erba, possiamo avere due possibilità di assunzione: tramite il foraggiamento verde o mediante il pascolo. L'inclusione di foraggio fresco nelle diete per bovini può creare difficoltà nel realizzare il razionamento, sia nel caso di un'alimentazione a pascolo che di un'alimentazione a foraggiamento verde. Questo a causa dell'incostante valore nutritivo, che obbliga l'Alimentarista a continui aggiustamenti della razione. In aggiunta la raccolta dei foraggi freschi o il pascolamento non è fattore gestionale facile da gestire perché fortemente influenzato dalle condizioni atmosferiche, in particolare dalle idrometeore. Negli ultimi 50 anni questi inconvenienti hanno pesantemente indebolito la possibilità di introdurre foraggio fresco nella razione alimentare, trascurando la naturale predisposizione all'erba della specie bovina che, fino agli anni 50 veniva dagli allevatori considerata un pregio da sfruttare. Negli ultimi 50 anni la zootecnia ha avuto profondi cambiamenti che hanno inflitto all'erba un ruolo marginale nell'alimentazione.

Concludendo, ritengo legittimo pensare ad una revisione dell'attuale sistema alimentare adottato nell'allevamento intensivo bovino, dato che le materie prime alimentari oggi in uso, sono in profondo disaccordo con le caratteristiche dell'erba, da sempre unica e insostituibile fonte alimentare del bovino.



## 5. BIBLIOGRAFIA

- Aguggini G., Beghelli V., Giulio L.F., 1998. Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia. Pag. 528-573. UTET Torino
- Akin D.E., Chesson A., 1990. Lignification as the major factor limiting forage feeding value specially in warm conditions. 1753-1760. In Proc.XVI Int. Grassland Congr., Vol. III. Nice, France, 4-11 October 1989, Association Francaise pour la Production Fourragère, Versailles, France
- Ankri S., Mirelman D., 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 2:125-129
- Asp N.G., 1993. Nutritional importance and classification of food carbohydrates. In: Meuser F., Manners D.J., Seibel W., 1992. *Plant Polymeric Carbohydrates*. Royal Society of Chemistry
- Bailey R.W., Jones D.I.H., 1972. Pasture quality and ruminant nutrition. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 16: 197-202
- Balandrin M.F., Klocke J.A., 1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science* 228:1154-1160
- Balasini D., 2003. *Zootecnica speciale*. Calderini Edagricole. pag. 4-11
- Ballarini G., 1994. *Malattie della bovina da latte ad alta produzione BLAP*. Edagricole
- Barry T.N., Manley T.R., 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep 2. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. *Br. J. Nutr.* 55:123-137
- Beaver D.E., Siddons R.C., 1985. Digestion and metabolism in the grazing ruminant. In: L. P. Milligan, Grovum W. L., Dobson A. (Ed.) *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Prentice-Hall
- Beaver, D.E., Gill M., Sutton J.D., 1989. Limits to animal production with high forage diets. *J. Anim. Sci.* 67 :298-...
- Bittante G., Andrighetto I., Ramanzin M., 1991. *Fondamenti di zootecnica*. Liviana Editore. Pag 212-230
- Borchers R., 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. *J. Anim. Sci.* 24:1033-1038
- Borgioli E., 1983. *Nutrizione e alimentazione degli animali domestici*. Edagricole. Pag. 329-330
- Borgioli E., 1985. *Genetica e miglioramento degli animali agricoli*. Edagricole. Pag 123-138





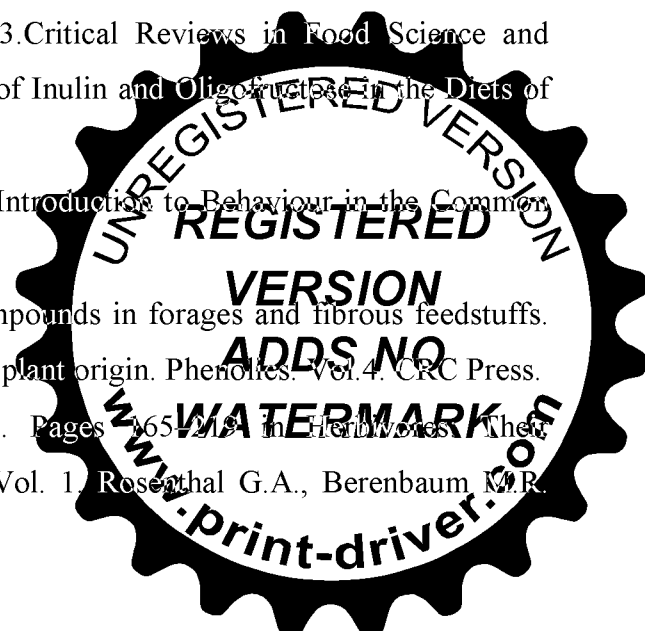
- Bortolami R., Callegari E., Beghelli V., 1982. Anatomia e fisiologia degli animali domestici. Edagricole. Pag. 241-282
- Broderick G.A., Luchini N.D., Reynal S.M., Varga G.A., Ishler V.A., 2008. Effect on production of replacing dietary starch with sucrose in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:4801–4810
- Broderick G.A., Wallace R.J., Orskov E.R., 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: Tsuda T., Sasaki Y., Kawashima R., 1991. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Pag. 541. Academic Press
- Broderick G.A., Albrecht K.A., 1997. Ruminant in vitro degradation of protein in tannin-free and tannin-containing forage legume species. *Crop Science*. 37:1884-1891
- Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F. 2000. Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87:263–277
- Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F., 2002. Effects of dry plant extracts on feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101:183–189
- Bryant M.P., 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32:1809-1813
- Burroughs W., Gerlaugh P., Edgington B.H., Bethke R.M., 1949. The influence of corn starch upon roughage digestion in cattle. *J. Animal. Sci.* 8:271-278
- Burt S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94:223–253
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Cardozo P.W., Kamel C., 2005a. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.* 88:2508–2516
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Carro M.D., Kamel C., 2005b. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 88:4393–4404
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C., 2005c. Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123/124:597–613
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C., 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761–771



- Callaway T.R., Martin S.A., 1996. Effects of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *J. Anim. Sci.* 74:1982-1989
- Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret, C. Kamel., 2004. Effects of natural plant extracts on protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 82:3230–3236
- Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C., 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83:2572–2579.
- Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C., 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 84:2801–2808.
- Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A., 2006. Effect of essential oils active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *J. Dairy Sci.* 89:2649–2658
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation . *J. Dairy Sci.* 90:2580-2595
- Castillo C., Benedito J.L., Méndez J., Pereira V., López-Alonso M., Miranda M., Hernández J., 2004. Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Animal Feed Science and Technology.* 115:101-116
- Cevolani D., Barbieri L., Pepe F., Frigerio E., Bombardieri R., Cavassini P., Landini I., Mattiello S., Vertini F., 2005. Gli alimenti per la vacca da latte. Ed agricole. Pag. 393-399.
- Chesson A., Forsberg C.W., 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganism. P. 251-284. In: P.N. Hobson (ed.), *The rumen microbial system.* Elsevier Applied Sci.
- Ciavarella T.A., Dove H., Leury B.J., Simpson R.J., 2000. Diet selection by sheep grazing *Phalaris aquatica* L. pastures of differing water-soluble carbohydrate content. *Aust. J. Agric. Res.* 51:757–764
- Ciavarella, T.A., Dove H., B.J. Leury, Simpson R.J., 2000. Diet selection by sheep grazing *Phalaris aquatica* L. pastures of differing water-soluble carbohydrate content. *Aust. J. Agric. Res.* 51:757–764



- Colombari G., Crovetto G.M., Borreani G., Tabacco E., Zapparoli G.A., 2005. L'aggiunta di tannini per migliorare l'insilato di medica. *L'informatore Agrario*. 39:51-56
- Counotte G.H.M., Prins R.A., Janssen R.H.A.M., DeBie M.J.A., 1981. Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL- lactate in the rumen of dairy cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 42:649-655
- Danscher A.M., Enemark J.M., Telezhenko E., Capion N., Ekstrøm C.T., Thoenfer M.B., 2009. Oligofructose overload induces lameness in cattle. *J. Dairy Sci.* 92:607–616
- Davidson P.M., Naidu A.S., 2000. Phyto-phenols. Pag. 265–293 In: Naidu A.S., 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC Press.
- Dehority B.A., 1993. Microbial ecology of cell wall fermentation. Pag. 425-453 In: Jung H.G., Buxton D.R., Hatfield R.D., Ralph J. (ed.), *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA-CSSA-SSSA
- Dewhurst R.J., Evans R.T., Scollan N.D., Moorby J.M., Merry R.J., Wilkins R.J., 2003. Comparison of Grass and Legume Silages for Milk Production. In Vivo and In Sacco Evaluations of Rumen Function. *J. Dairy Sci.* 86:2612-2621
- Dell'Orto V., Savoini G., 2005. *Alimentazione della vacca da latte*. Edagricole
- Dijkshoorn W., 1962. Metabolic regulation of the alkaline effect of nitrate utilization in plants. *Nature (Lond.)* 194:165-167
- Dijkshoorn W., 1973. Organic acids, and their role in ion uptake. Pag. 163-188. In: Butler G.W., Bailey R.W (ed.), *Chemistry and biochemistry of herbage*. Academic Press
- Evans J.D., Martin S.A., 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr. Microbiol.* 41:336–340
- Fabrica D., 22/01/2008. Comunicazione orale dall'incontro tecnico "Migliorare l'efficienza economica nonostante l'aumento delle materie prime". Sandrigo (VI)
- Flickinger E.A., Van Loo J., Fahey G.C., 2003. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Nutritional Responses to the Presence of Inulin and Oligofructose in the Diets of Domesticated Animals: A Review
- Fraser A.F., 1980. *Farm Animal Behaviour: An Introduction to Behaviour in the Common Farm Species*. Baillière Tindall. Pag. 51
- Fahey G.C. Jr, Jung H.J.G., 1989. Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. Pag. 123-190. In Cheeke P.R., 1989. *Toxicants of plant origin. Phenolics*. Vol.4. CRC Press.
- Gershenzon J., Croteau R., 1991. Terpenoids. Pages 165-219 in *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Vol. 1. Rosenthal G.A., Berenbaum M.R. Academic Press



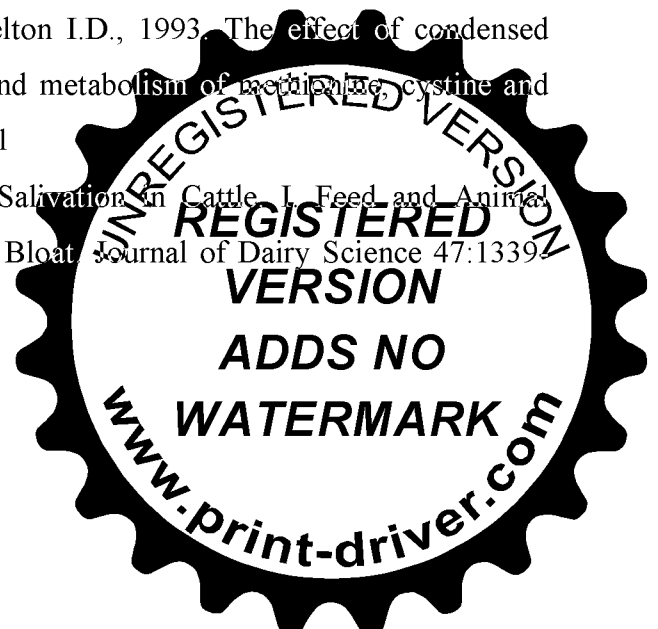
- Giancesella M., 2009. Subacute rumen acidosis in Italian dairy herds. Lambert Academic Publishing AG & Co
- Giancesella M., Stelletta C., Morgante M., 2005. L'acidosi ruminale subacuta nella bovina da latte: indagine preliminare in alcuni allevamenti del nord italia. L'informatore Agrario. 45:49-...
- Broderick G.A., Desirable J., 1995. Characteristics of Forage Legumes for Improving Protein Utilization in Ruminants. J. Anim. Sci. 73:2760-2773
- Gottschalk G., 1986. Bacterial Metabolism (2nd Ed.). Pag. 242. Springer-Verlag.
- Hall M.B., Herejk C., 2001. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. J. Dairy Sci. 84:2486-2493
- Hall M.H., 2002. Working with sugars (and molasses). Proceedings 13<sup>th</sup> Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, pp146-158
- Haslam E., 1993. Polyphenols-phytochemical chameleons. In: Van Meek, T.A., Breterlerm, H. (Eds.), Phytochemistry and Agriculture, Claredon Press. Pag. 214-252
- Heady H.F. 1964. Palatability of herbage and animal preference. J. Range. Manage. 17:76-82
- Hirst E.L., Ramstad S.J., 1957. Changes in organic acid content of perennial ryegrass during conservation. J. Sci. Food Agr. 8:727-732
- Hoover W.H., Stokes S.R., 1991. Balancing carbohydrate and protein for optimum rumen microbial yield. J. Dairy Sci. 74:3630-3644
- Hoover W.H., Stokes S.R., 1991. Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial Yield. Journal of Dairy Science. 74.3630-3644
- Hungate R.E., 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York
- Jeraci J.L., Lewis B.A., 1989. Determination of soluble fiber components: (1→3; 1→4)- β - D-glucans and pectins. Anim. Feed Sci. Technol. 23:15-25
- Jess D., Reed J., 1995. Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. J. Anim. Sci. 73:1516-1528
- Jones G.A., McAllister T.A., Muir A.D., Cheng J., 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 60:1374-1378
- Jones W.T., Mangan J.L., 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. J. Sci. Food 28:126-136
- Jung H.G., 1989. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. Agron. J. 81:35-38



- Jung H.G., Vogel K.P., 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *J. Anim. Sci.* 62:1703-1712
- Albrecht K.A., Muck R.E., 1991. Proteolysis in ensiled forage legumes that vary in tannin concentration. *Crop Science*, 31:464-469
- Kamel C., 2001. Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non-ruminants. Pag.135–150 In: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Garnsworthy P.C., and Wiseman J., ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK
- Kawashima D.M., 1980. Influence of minerals on rumen microbial digestion. p. 375-408. In: Ruckebusch Y., Thivend P. (Ed.) *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Avi Publishing Co., Westport, CT
- Kern D.L., Slyter L.L., Leffel E.C., Weaver J.M., Oltjen R.R., 1974. Ponies vs steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta. *J. Anim. Sci.* 38: 559
- Kim K.H., Oh Y.G, Choung J.J., Chamberlain D.G., 1999a. Effects of varying degrees of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on the synthesis of microbial protein in cattle consuming grass silage. *J. Sci. Food Agric.* 79:833–838
- Kim K.H., Choung J., Chamberlain D.G., 1999b. Effects of varying the degree of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on the synthesis of microbial protein in lactating dairy cows consuming a diet of grass silage and a cereal-based concentrate. *J. Sci. Food Agric.* 79:1441–1447
- Kim K.H., Lee S.S., Jeon B.T., Kang C.W., 2000. Effects of the pattern of energy supply on the efficiency of nitrogen utilization for microbial protein synthesis in the non-lactating cows consuming grass silage. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 13:962–966
- Kirchgessner M. *Tierernahrung* 7, 1987. Auflage D.L.G. Verlag Frankfurt.
- Krause K.M., Oetzel G.R., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology* 126:215-236
- Krause, K.M., Oetzel G.R., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:215–236
- Kronfeld D.S, Van Soest P.J., 1976. Carbohydrate Nutrition. In: *Comparative Animal Nutrition*, vol. 1. Rechigl M. Jr., ed. Karger, Basel. Pag. 23-73
- Langer P., 1988. The mammalian Herbivore Stomach: Comparative Anatomy Function and Evolution. G. Fischer, Stuttgart. Pag. 557
- Lanza B., Azzaroli M.L., Borri M., Poggesi M., Vanni S., 1982. Dizionario del regno animale. Arnoldo Mondadori Editore. 97-98



- Lawson L., 1996. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. Pag. 37–107 in *Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*. H. P. Koch, and L. D. Lawson, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Linehan B., Scheifinger C.C., Wolin M.J., 1978. Nutritional Requirements of *Selenomonas ruminantium* for Growth on Lactate, Glycerol, or Glucose. *Appl Environ Microbiol.* 35: 317-322
- Bush L., Burton H., 1994. Intrinsic chemical factors in forage quality. Pag. 367-405. In: George C. Fahey, George C. Fahey, Jr., 1994. *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. American Society of Agronomy, Collins M., Mertens David R..
- Mariani P., Podestà A., 1996. *Biochimica e biotecnologia del ruminante*. Piccin Pag. 7-101
- Martin S.A., Park C.M., 1996. Effect of extracellular hydrogen on organic acid utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Curr. Microbiol.* 32:327-331
- Martin S.A., Streeter M.N., 1995. Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Anim. Sci.* 73:2141-2145
- Mayland H.F., Shewmaker G.E., Harrison P.A., Chatterton N.J., 2000b. Nonstructural carbohydrates in tall fescue cultivars: Relationship to animal preference. *Agron. J.* 92:1203–1206
- Mc Allister T., 2000. Learning more about rumen bugs and environmental factors affecting rumen bugs. *Southern Alberta Beef Review* January 2000, volume 2, issue 1. <http://www.usask.ca/wcvm/herdmed/applied-ethology/articles/0001d.html>
- Mc Donald P., Henderson A.R, Heron S.J.E., 1991. *The biochemistry of silage*. Chalcombe Publications.
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F., 1992. *Nutrizione animale. Tecniche Nuove*. Pag. 376-384.
- McNabb W.C., Waghorn G.C., Barry T.N., Shelton I.D., 1993. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the digestion and metabolism of methionine, cystine and inorganic sulphur in sheep. *Br. J. Nutr.* 70:647-661
- Meyer R.M., Bartley E.E., Morrill J.L., 1964. Salivation in Cattle. I. Feed and Animal Factors Affecting. Salivation and Its Relation to Bloat. *Journal of Dairy Science* 47:1339-1345



- Min B.R.; Barry T.N., Attwood G. T., McNabb W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review animal feed science and technology, *Animal Feed Science and Technology*. 106:3-19
- Miller L.A., Moorby J.M., Davies D.R., Humphreys M.O., Scollan N.D., MacRae J.C., Theodorou M.K., 2001. Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late-lactation dairy cows. *Grass and Forage Science*. 56:383-394
- Miller L.A., data di pubblicazione non pervenuta
- Miller L.A., Moorby J.M., Davies D.R., Humphreys M.O., Scollan N.D., MacRae J.C., Theodorou M.K., 2001. Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late-lactation dairy cows. *Grass and Forage Science* pag. 383-394
- Mohammed N., Ajisaka N., Lila Z.A., Mikuni K., Hara K., Kanda S., Itabashi H., 2004. Effect of Japanese horseradish oil on methane production and ruminal fermentation in vitro and in steers. *J. Anim. Sci.* 82:1839–1846
- Mole S., 1989. Polyphenolics and the nutritional ecology of herbivores. P.191-223. In P.R. Cheeke (ed.) *Toxicants of Plant Origin. Phenolics*. Vol. 4. CRC Press, Boca Raton, FL
- Moore K.J., Hatfield R.D., 1994. Carbohydrates and forage quality. In: *Forage quality, Evaluation, and Utilization*. Fahey George C., Fahey George C. Jr., Collins M., Mertens David R., ed. Soil Science Society of America pag.261
- Morgante M., Appunti dal corso di “Prevenzione delle patologie di allevamento”. Università degli Studi di Padova. Anno non pubblicato
- Morgante M., Stelletta C., Berzaghi P., Ganesella M., Andrighetto I., 2007. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *J. of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 91:226-234
- Muck R.E., 1991. Silage fermentation. In: Zeikus G., Johnson E.A. (Ed.) *Mixed Cultures in Biotechnology*. p 171. McGraw-Hill
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., 2004. Harper: *Biochimica*. Ed. Mac Graw Hill
- Nagaraja T.G., Towne G., Beharka A.B., 1990. Moderation of ruminal fermentation by protozoa in cattle fed high-grain diets. *Kansas Cattle Feeders Day*. pp 16-18. Kansas State University, Manhattan
- Nelson D.L., Cox M.M., 2002. I principi di biochimica di Lehninger, Zanichelli



- Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1979. Trattato di anatomia degli animali domestici; vol. II, pag.153-174. Casa editrice Ambrosiana Milano
- Nisbet D.J., Martin S.A., 1990. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:3515-3518
- Nisbet D.J., Martin S.A., 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 69:4628-4633
- Nisbet D.J., Martin S.A., 1993. Effects of fumarate, Lmalate, and an *Aspergillus oryzae* fermentation extract on Dlactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Curr. Microbiol.* 26:133-136
- Nisbet, D.J., Martin S.A. 1994. Factors affecting L-lactate utilization by *Selenomonas ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 72:1355-1361
- Nocek J.E., 1997. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005-1028
- Nocek J.E., Tamminga S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74:3598–3629
- Nocek J.E., 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005–1028
- O'Riordan E.G., O'Kiely P., Keane M.G., 1998. Efficient beef production from grazed pasture. Teagasc, Dunsany, Ireland
- Orskov E.R., Fraser C., 1975. The effects of processing of barley-based supplements on rumen pH, rate of digestion, and voluntary intake of dried grass in sheep. *Br. J. Nutr.* 34:493
- Owens F.N., Secrist D.S., Hill W.J., Gill D.R., 1998. Acidosis in Cattle: A Review. *J. Anim. Sci.* 76:275–286
- Packett L.V, Fordham J.R., 1965. Utilization of citric acid by rumen microorganisms. *J. Anim Sci.* 24:488-493
- Piccioni M., 1989. Dizionario degli alimenti per il bestiame. Edagricole. Pag. 323-329
- Piva G., Rossi F., 1999. Possible alternatives to the use of antibiotics as growth promoters. New additives. In *Feed Manufacturing in the Mediterranean Region. Opt. Mediter.* 3:983–106
- Poli G., Cocilovo A., 1996. Microbiologia e immunologia veterinaria; pag. 269-278. Utet
- Provenza F.D., 1995. Postingestive Feedback as an Elementary Determinant of Food Preference and Intake in Ruminants *Journal of Range Management.* 48:2-17
- Reed J.D., Soller H., Woodward A., 1990. Fodder tree and straw diets for sheep. Intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* 1:209–231





- Reeves J.B., 1987. Lignin and fiber compositional changes in forages over a growing season and their effects on in vitro digestibility. *J. Dairy Sci.* 70:1583-1594
- Righi F., Quarantelli A., Gandolfi A., 4-5-6 Maggio 2006. Importanza della struttura della fibra per le funzioni del rumine. Associazione italiana dei buiatri. Marmiolo, (Mn). 38.
- Rist M., Schraegel I., 1996. Allevamento etologico dei bovini. Edagricole. Pag. 25
- Robbins C. T., Hanley T.A., Hagerman A.E., Hjeljord D., Baker L., Schwartz C.C., Mautz W.W., 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology.* 68:98-107
- Rotz C.A., Muck R.E., 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In: Forage quality, evaluation, and utilization, George C. Fahey, Jr. 828-868
- Russell J.B., Van Soest P.J., 1984. In vitro ruminal fermentation of organic acids common in forage. *Appl Environ Microbiol.* 47:155-159
- Russell J.B., Hino T., 1985. Regulation of Lactate Production in *Streptococcus bovis*: A Spiraling Effect That Contributes to Rumen Acidosis. *Journal of Dairy Science* 68:1712-1721
- Russell J.B., Strobel H.J., 1989. Effects of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1-6
- Saito Y., Takano T., Rowland I., 1992. Effects of soybean oligosaccharides on the human gut microflora in vitro culture. *Microbiol. Ecol. Health Dis.* 5:105–111
- Silanikove N., Gilboa N., Nitsan Z., 1997. Interactions among tannins, supplementation and polyethylene glycol in goats given oak leaves: effects on digestion and food intake. *J. Animal Science.* 64:479-483.
- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44:1202–1205
- Skandamis P.N., Nychas G.J., 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H17 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentration. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1646–1653
- Slyter L.L., 1976. Influence of Acidosis on Rumen function *J. Anim Sci.* 43:910-929
- Smith D., 1973. The nonstructural carbohydrates. In: *Chemistry and Biochemistry of Herbage*, vol. 1. Butler G.W., Bailey R.W., 1973. Academic Press. Pag. 514-542
- Smith, A.K., Circle S.J., 1978. Chemical composition of the seed. In *Soybeans. Chemistry and Technology*, Ed. A. K. Smith and S. J Circle. AVI publishing



- Smith D., 1973. The nonstructural carbohydrates. In: Chemistry and Biochemistry of Herbage, vol. 1. G.W. Butler, R.W. Bailey, eds. Elsevier Science Publ. Pag. 514-542
- Stewart C.S., 1977. Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. Appl. Environ. Microbiol. 33:497
- Stout P.R., Brownell J.R., Burau R.G., 1967. Occurrences of *trans*-aconitate in range forage species. Agron. J. 59:21-24
- Strobel H.J., Russell J.B., 1986. Effect of pH and Energy Spilling on Bacterial Protein Synthesis by Carbohydrate-Limited Cultures of Mixed Rumen Bacteria. J. Dairy Sci. 69:2941-2947
- Strobel H.J., Russell J.B. 1991. Role of sodium in the growth of a ruminal selenomonad. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1663-1668
- Suzuki M., Chatterton N.J., 1993. Science and technology of fructans. CRC Press. Pag. 129
- Theodorou M.K., Merry R.J., Thomas H., 1996. Is proteolysis in the rumen mediated by plant enzymes? Br. J. Nutr. 75:507-508
- Thoenfer M.B., Pollitt C.C., Van Eps A.W., Milinovich G.J., Trott D.J., Wattle O., Andersen P.H., 2004. Acute bovine laminitis: A new induction model using alimentary oligofructose overload. J. Dairy Sci. 87:2932–2940
- Tolkamp B.J., Dewhurst R.J., Friggens N.C., Kyriazakis I., Veerkamp R.F., Oldham J.D., 1998. Diet choice by dairy cows: 1. Selection of feed protein content during the first half of lactation. J. Dairy Sci. 81:2657–2669
- Tomomatsu H., 1994. Health effects of oligosaccharides. Food Technol. 48:61–65
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol. 68:1561–1568
- Van Leeuwen P., Verdonk J.M.A.J., 2004. The gastro-intestinal degradation of inulin preparations and their effects on production performance and gut microflora in calves. Animal Sciences Group Wageningen UR, Lelystad, Netherlands
- Van Loo J., 2007. How Chicory Fructans Contribute to Zootechnical Performance and Well-Being in Livestock and Companion Animals. The journal of nutrition. 137:2594-2597
- Van Soest P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. Pag 156-176
- 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. J. Dairy Sci. 74:3583-3597



- 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. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597
- Vezzaro A., 10/06/2009. Comunicazione orale personale.
- Vickery H.B., Pucher G.W., 1940. Organic acids of plants. *Ann. Rev. Biochem.* 9:529
- Voet D., Voet J.G., Pratt C.W., 2001. *Fondamenti di biochimica*. Zanichelli
- Waghorn G.C., Shelton I.D., McNabb W.C., 1994. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 1. Non-nitrogenous aspects. *J. Agronomic. Sci.* 123:99-107
- Waghorn, G.C., Ulyatt M.J., John A., Fisher M.T., 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of aminoacids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. *Br. J. of Nutr.* 57:115
- Wallace R.J., 1995. The proteolytic system of ruminal microorganisms. Pages 20–29 in *Rumen Microbiology Satellite Symp. of IV Int. Symp. Nutr. Herbivores*. INRA, Clermont-Ferand
- Wheeler W.E., 1977. Buffers in dairy cattle feeds. *Proc. Cornell Nutrition Conf.* , Ithaca, N.Y. Pp 3-31
- White B.A., Mackie R.I., Doerner K.C., 1993. Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. Pag. 455-484. In: Jung H.G., Buxton D.R., Hatfield R.D., Ralph J. (ed.) *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI
- White B.A., Mackie R.I., Doerner K.C., 1993. Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. 455-484. In: H.G. Jung., D.R. Buxton, R.D. Hatfield, J. Ralph (ed.) *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI
- Wilson G. F., Reid C.S.W., Molloy L.F., Metson A.J., Butler G.W., 1969. Grass tetany. Influence of starch and peanut oil supplements on plasma magnesium, calcium, and phosphorus levels in grazing dairy cows. *N.Z. J. Agr. Res.* 12:467-483
- Wilson J.R., Kennedy P.M., 1996. Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Aust. J. Agric. Res.* 47:199–225
- Wood J.G.M., Parker J., 1971. Respiration during the drying of hay. *J. Agric. Eng. Res.* 16:179-191



- Woodward A., 1988. Chemical composition of browse in relation to relative consumption of species and nitrogen metabolism of livestock in southern Ethiopia. Ph.D. Dissertation. Cornell University
- Wright D.E., 1971. Citric acid metabolism in the bovine rumen. Appl. Microbiol. 21:165-168

