

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE VETERINARIE**

Ciclo XXXII

Settore Concorsuale: PRODUZIONI ANIMALI E SICUREZZA ALIMENTARE

Settore Scientifico Disciplinare: AGR 18

**Studio delle risposte comportamentali, produttive e sanitarie
di bovine in lattazione esposte a diversi regimi dietetici**

Presentata da: Cavallini Damiano

Coordinatore Dottorato

**Chiar.mo Prof.
Arcangelo Gentile**

Supervisore

**Chiar.mo Prof.
Andrea Formigoni**

Esame finale anno 2020

ABSTRACT

La razione con il piatto unico o *unifeed* basata sull'utilizzo di fieni è quella più diffusamente utilizzata nell'areale del Parmigiano Reggiano. In molti casi, oramai, all'unifeed non viene aggiunta acqua per evitare la possibilità di fermentazioni in mangiatoia. In questa situazione la granulometria della dieta deve essere ridotta per evitare che agli animali abbiano la capacità di selezionare i mangimi dai foraggi. Conseguentemente alla riduzione di granulometria, i valori di fibra fisicamente efficace si portano generalmente al di sotto di quelli considerati accettabili. Questo può portare alla diminuzione del tempo di ruminazione e secrezione di saliva con incremento del rischio di acidosi ruminale subacuta. Inoltre, i fieni comunemente utilizzati in questo areale sono spesso di bassa qualità e di basso valore nutritivo a causa delle condizioni climatiche estive, il che obbliga spesso ad incrementare la quantità di concentrati nella dieta per soddisfare le richieste energetiche e azotate delle bovine. Sulla base di queste considerazioni sono state eseguite due prove sperimentali presso la stalla didattico-sperimentale dell'Università di Bologna, che hanno avuto l'obiettivo di studiare la funzionalità ruminale, le variazioni del comportamento alimentare e i riflessi produttivi in bovine di razza Frisona Italiana sottoposte a differenti sistemi di gestione della somministrazione dell'alimento e differenti rapporti foraggi:concentrati. La prima prova si è posta l'obiettivo di studiare il comportamento alimentare di bovine soggette ad una disponibilità dell'alimento *ad libitum* o razionata e con la presenza o assenza di fieno lungo a disposizione. La seconda ha studiato l'effetto di un cambio drastico di stabulazione e dieta, con il passaggio da una situazione di stabulazione libera con una dieta standard ad una fissa e con una dieta ricca in concentrati. Queste prove hanno consentito l'acquisizione di una consistente quantità di dati ed informazioni, grazie a sistemi tecnologici come i collari ruminometri, i boli reticolari di misurazione del pH e mangiatoie dotate di sensori per lo studio del comportamento alimentare. I risultati così ottenuti hanno permesso di determinare che le modalità di somministrazione della razione influenzano notevolmente il comportamento alimentare, ruminale e di conseguenza il pH. La costanza nella pratica quotidiana è fondamentale e le bovine presentano una spiccata capacità all'adattamento, ma la variabilità apportata dagli errori nella gestione può diventare una grande problematica in azienda. Si consiglia quindi la messa a disposizione di fieno lungo in mangiatoia, per mitigare gli squilibri ruminali provocati da diete eccessivamente spinte o da errori nella preparazione dell'unifeed. Sono state infine rilevate elevate differenze individuali tra i capi in allevamento, differenze che in condizioni estreme si magnificano e hanno permesso di individuare i soggetti più a rischio. Lo studio di queste differenze ha importanti risvolti pratici nella gestione quotidiana della mandria e apre le porte all'inclusione di nuovi indici di selezione dei capi più resistenti. Su questi e altri temi che interessano la nutrizione e il management della bovina da latte è necessario un focus particolare da parte del mondo accademico e della ricerca per favorire l'ampliamento delle conoscenze e la crescita di nuove figure professionali.

INDICE

Introduzione.....	1
1. Parte compilativa	3
1.1 Unifeed, gestione e riflessi nutrizionali	3
1.1.1 La granulometria.....	6
1.1.2 Il comportamento alimentare	11
1.2 Funzionalità ruminale	16
1.2.1 Prevalenza di SARA	18
1.3 Monitoraggio della funzionalità ruminale	21
1.3.1 Il pH reticolo-ruminale	22
1.3.2 La temperatura reticolo-ruminale	28
1.3.3 Il tempo di ruminazione.....	30
2. Parte sperimentale	36
2.1 Scopo della tesi.....	36
2.2 Prova 1: Effetti della somministrazione ad libitum o ristretta di unifeed con la supplementazione di fieno lungo sui parametri produttivi, ruminali e comportamentali	37
2.2.1 Finalità.....	37
2.2.2 Materiali e metodi.....	38
2.2.3 Analisi statistica.....	48
2.2.4 Risultati e discussione	49
2.2.5 Conclusioni.....	91
2.3 Prova 2: Valutazione degli effetti e della suscettibilità individuale di un challenge nutrizionale e gestionale in bovine ad elevata produzione	93
2.3.1 Finalità.....	93
2.3.2 Materiali e metodi.....	94
2.3.3 Schema di campionamento	99
2.3.4 Analisi statistica.....	102
2.3.5 Risultati e discussione	103
2.3.6 Conclusioni.....	135
3. Considerazioni finali	137
Bibliografia.....	138

INTRODUZIONE

La razione con il piatto unico o *unifeed* basata sull'utilizzo di fieni è quella più diffusamente utilizzata nell'areale del Parmigiano Reggiano (PR). In molti casi, oramai, all'unifeed non viene aggiunta acqua per evitare la possibilità di fermentazioni in mangiatoia. In questa situazione la granulometria della dieta deve essere ridotta per evitare che agli animali abbiano la capacità di selezionare i mangimi dai foraggi. Conseguentemente alla riduzione di granulometria, i valori di fibra fisicamente efficace (peNDF) si portano generalmente al di sotto di quelli considerati accettabili (Fustini *et al.*, 2016). Questo può portare alla diminuzione del tempo di ruminazione e secrezione di saliva con incremento del rischio di acidosi ruminale subacuta (SARA, Khafipour *et al.*, 2009a, b). Inoltre, i fieni comunemente utilizzati in questo areale sono spesso di bassa qualità e di basso valore nutritivo a causa delle condizioni climatiche (Palmonari *et al.*, 2016), il che obbliga spesso ad incrementare la quantità di concentrati nella dieta per soddisfare le richieste energetiche e azotate delle bovine. Un'adeguata granulometria nella razione è comunque necessaria per mantenere la funzione ruminale e la qualità del latte. Inoltre, la peNDF favorisce la masticazione e la produzione di saliva mantenendo adeguate condizioni ruminali per l'assorbimento degli AGV; tutto ciò che promuove la stabilità del pH (Mertens, 1977, 1997).

In uno studio condotto da Kmicikewycz e Heinrichs (2014) si è evidenziato che la supplementazione di fieno lungo in razione favorisce il recupero delle bovine in condizioni di SARA ad inizio e metà lattazione. Inoltre, l'inclusione di fieno lungo in basse proporzioni, in particolare in diete basate su insilati finemente trinciati, ha mostrato di migliorare il tempo di ruminazione (Beauchemin *et al.*, 1994). Le bovine sono inoltre capaci di selezionare particelle di fibra lunga se il pH ruminale e la ruminazione sono bassi. Maulfair *et al.* (2013) hanno dimostrato come vacche in SARA siano capaci di cambiare le loro preferenze alimentari in favore di diete con maggiore contenuto in foraggi lunghi e minore in amidi fermentabili. Inoltre, dallo studio di Keunen *et al.* (2002) è risultato che le vacche in SARA indotta incrementano la loro preferenza per il fieno lungo di medica in comparazione con il pellettato dello stesso fieno. È stato suggerito che in condizioni di ridotto pH ruminale, se viene data loro la possibilità, le bovine scelgono alimenti con maggiore capacità tamponante (DeVries *et al.*, 2008).

L'utilizzo di sistemi di identificazione e monitoraggio della mandria si è diffuso negli ultimi anni e il flusso di dati che ne deriva è una delle chiavi del successo per la gestione dell'azienda da latte moderna. Grazie alla rilevazione delle deviazioni che si possono registrare rispetto lo stato normale della bovina, possono essere rilevate per esempio mastiti, patologie podali o più semplicemente i calori; tutto questo grazie a diversi sistemi come la conducibilità o la temperatura del latte, l'attività motoria e locomotoria (Tomaszewski, 1993), oppure alla ruminazione (Stangaferro *et al.*, 2016a, b, c) o alle variazioni del pH (Humer *et al.* 2015a, b; Falk *et al.*, 2016). Grazie all'utilizzo di sensori, quali i boli ruminali, è possibile registrare le variazioni del pH ruminale, o più spesso rumino-retioclare, che può fornire importanti informazioni sul pattern digestivo delle bovine e identificare i soggetti a maggiore rischio di SARA (Humer *et al.*, 2018).

Le vacche da latte sono cambiate significativamente negli ultimi decenni, come anche le tipologie di ingredienti e diete ed i sistemi di produzione. Per questi motivi, nella zootecnia moderna, il connubio tra tradizione, tramandata dalle produzioni tipiche, e innovazioni tecnologiche della gestione della mandria ci offrono sempre nuove sfide che la scienza deve saper affrontare, dando risposte pratiche alle problematiche quotidiane che gli allevatori si trovano a gestire.

1. PARTE COMPILATIVA

1.1 UNIFEED, GESTIONE E RIFLESSI NUTRIZIONALI

L'unifeed, o piatto unico, è la tecnica di alimentazione più utilizzata nei moderni allevamenti e nasce con l'obiettivo di fornire una razione costante durante tutto il corso della giornata; essa si basa sulla distribuzione dell'alimento a volontà (*ad libitum*), in maniera tale che nella mangiatoia rimanga, prima della successiva distribuzione di alimento, almeno il 3-5% di residuo.

Questa tecnica viene ampiamente applicata anche nell'areale del Parmigiano Reggiano (PR), dove come noto non è ammesso l'utilizzo di insilati. Il disciplinare di produzione del PR fa divieto di bagnare l'unifeed se questo viene distribuito una volta al giorno. L'unifeed preparato senza aggiunta di insilati e/o acqua viene definito "piatto unico secco" ed è quindi la tecnica che viene preferita da molti produttori dell'areale, perché l'aggiunta di acqua, specialmente nel periodo estivo, in poche ore può portare a fermentazioni anomale in mangiatoia.

La fibra neutro detersa (NDF) consiste nelle frazioni di emicellulosa, cellulosa e lignina (Van Soest e Wine, 1967), che vengono corrette per le ceneri e l'amido (aNDFom), come suggerito da Mertens (2002), per una migliore determinazione nella dieta (Coppock, 1987; Varga *et al.*, 1998). L'NRC (2001) raccomanda che il contenuto di NDF nell'unifeed rappresenti almeno al 25-28% della SS, di cui almeno il 19% proveniente da foraggi. Tuttavia, nelle diete comunemente utilizzate si fa largo uso di concentrati amidacei, per far fronte alle necessità energetiche delle produzioni; di conseguenza questo valore è molto basso, pur considerando che una quota di NDF può essere somministrata in parte attraverso i concentrati. Tuttavia, il contenuto di NDF della dieta dà informazioni solo sulle caratteristiche chimiche, che non sono sufficienti per valutare l'adeguatezza delle fibre nelle diete per ruminanti. Grazie alla necessità di dover combinare l'aspetto fisico e chimico, il concetto di fibra fisicamente efficace (peNDF) è ormai diffusamente accettato (Mertens, 1997).

Tornando all'unifeed, idealmente si presume che il sistema consenta la simultanea ingestione di foraggi e concentrati; in tal modo si dovrebbero ridurre le fluttuazioni giornaliere del pH ruminale evitando periodi di eccessiva attività fermentativa. Nella preparazione del piatto unico è quindi fondamentale ottenere e mantenere per tutto l'arco della giornata l'omogeneità della miscela per non consentire all'animale di selezionare i concentrati rispetto ai foraggi (DeVries *et al.*, 2008; Maulfair *et al.*, 2010). Per questo motivo, l'impiego di diete a secco richiede una trinciatura particolarmente spinta delle particelle per ridurre le capacità di cernita da parte degli animali in favore della componente più appetibile rappresentata dai mangimi (Leonardi e Armentano, 2003), con il risultato potenziale di non assumere una quota adeguata di fibra, in particolare di peNDF (Humer *et al.*, 2018). Nel piatto unico a secco trinciato fine il valore di peNDF generalmente si riduce ben al disotto della soglia minima suggerita in letteratura, che equivale al 21% della sostanza secca (Mertens, 1997; Fustini *et al.*, 2016). Tuttavia, l'eccessiva riduzione delle dimensioni delle particelle può portare ad una

riduzione del tempo di ruminazione e dell'ammontare di saliva prodotta, con conseguente abbassamento del pH e aumento del rischio di SARA (Khafipour *et al.*, 2009a, b).

Tutti questi squilibri succedono perché molto spesso l'allevatore non è in grado di offrire una razione costante a causa delle variabili gestionali presenti in stalla, dovuti all'incostante qualità dei foraggi a disposizione o agli errori nella preparazione del carro. Queste situazioni di continua variabilità possono portare gli animali a rischi di squilibri alimentari. In altri casi è l'allevatore stesso a decidere di adottare la strategia della mangiatoia vuota a fine giornata, per ridurre i costi di alimentazione e non dover gestire le problematiche riguardanti la gestione dei residui.

Limitare la disponibilità di alimenti è stato messo in pratica con buon successo in diverse specie di ruminanti, specialmente nell'incremento dell'efficienza alimentare mantenendo, al tempo stesso, delle normali condizioni ruminali e di digeribilità (Owens *et al.*, 1995). La restrizione alimentare in esperienze passate ha migliorato la digeribilità della dieta (Zanton e Heinrichs, 2008), primariamente attraverso la riduzione del tasso di passaggio del materiale dal complesso reticolo-rumine (Bhatti *et al.*, 2008). Tuttavia, i pochi esperimenti condotti in queste condizioni sono stati realizzati in vacche in fase centrale di lattazione, mentre non esistono dati riguardanti l'applicazione di tali condizioni nelle altre fasi.

Per quanto riguarda i sistemi di alimentazione, è di primaria importanza fornire sufficiente spazio nel fornte di mangiatoia (almeno 60 cm/capo secondo Rioja-Lang *et al.*, 2012), per permettere l'accesso all'alimento riducendo le competizioni (DeVries *et al.*, 2004; Huzzey *et al.*, 2006; Rioja-Lang *et al.*, 2012); in tal modo si favorisce l'aumento del numero e la riduzione della consistenza dei pasti. Un ulteriore aspetto per prevenire la capacità di scelta è l'appropriata miscelazione dell'unifeed, che dovrebbe essere realizzata solo per pochi minuti (da 3 a 5 minuti dopo che l'ultimo ingrediente è stato aggiunto; Oelberg e Stone, 2014). Una sovra-miscelazione della razione produce una dieta molto fine, molto difficile da selezionare, ma anche povera in fibra strutturata quando il carro miscelatore ha anche capacità di taglio. La rapida ingestione di una dieta povera in fibra fisicamente efficace (peNDF) può non stimolare sufficientemente la produzione di saliva, andando a ridurre la capacità tampone del bolo di alimento e saliva ingerita (Nordlund *et al.*, 1995; Kleen *et al.*, 2003). Inoltre, l'aggiunta di acqua all'unifeed a secco fino al raggiungimento di un contenuto di sostanza secca (SS) di poco inferiore al 55%, in maniera particolare quando foraggi secchi sono inclusi nella razione, è utile per ridurre la selezione (Leonardi *et al.*, 2005; Krause e Oetzel, 2006). L'utilizzo di nuove tecnologie, come l'unifeed compatto (compact TMR), possono aiutare ad aumentare l'omogeneità dell'unifeed e minimizzare la capacità di scelta. Questo approccio ha l'obiettivo di tritare, mescolare, innalzare l'umidità e pressare i concentrati con i foraggi. È fondamentale che le fibre siano tritate e che i mangimi siano ben mescolati all'interno della componente fibrosa del mix; dall'uso di questa tipologia di unifeed ci si aspetta l'impossibilità di selezione e residui inferiori al 2% (Jaynes, 2015). Tuttavia, sono necessari studi di controllo su questa nuova tecnologia, soprattutto per valutare gli effetti sulla salute ruminale, in quanto la struttura fisica che stimola la ruminazione può potenzialmente essere ridotta.

È importante ricordare che molte aziende di piccole o medie dimensioni non hanno una consistenza della mandria tale da permettere la suddivisione in gruppi e la preparazione di unifeed adatti alle diverse fasi di lattazione. Quindi per rispondere alle diverse richieste energetiche delle bovine si ricorre alla preparazione di una razione parziale, ricca in fibre, e parte dei concentrati viene somministrata individualmente in base alle maggiori richieste energetiche in relazione alla produzione. Questo unifeed di base, uguale per tutto il gruppo in lattazione, contiene foraggi miscelati nel carro miscelatore con una relativa proporzione di concentrati (~2–3 kg per vacca per giorno), solitamente cereali, sottoprodotti industriali e integratori di minerali e vitamine (Bargo *et al.*, 2002; Vibart *et al.*, 2008). Questa razione è generalmente studiata per avere un alto contenuto in peNDF e rispondere alle esigenze energetiche di bovine con una moderata produzione di latte (18–23 kg/giorno). Come supplemento alla dieta di base, ogni bovina riceve, a seconda delle produzioni e del BCS (Body Condition Score, punteggio di condizione corporea), diversi quantitativi di concentrati grazie all'utilizzo di alimentatori automatici con riconoscimento individuale ed azionamento computerizzato (~0.4–0.5 kg di concentrati per ogni kg addizionale di latte prodotto; Hills *et al.*, 2015). I concentrati somministrati in tal modo sono generalmente pellettati con contenuti variabili di energia, amidi, proteine, minerali e vitamine, al fine di far fronte alle richieste energetiche del latte addizionale prodotto, che non sono coperte dall'unifeed di base. Sempre più diffusi sono i sistemi di mungitura automatica, comunemente chiamati robot di mungitura, dove il concentrato, oltre ad avere la funzione appena descritta, ha anche quella di invogliare la bovina ad esser munta con una maggiore frequenza (Bach *et al.*, 2007). Anche nel caso in cui si utilizzi un unifeed di tipo parziale, rimane importante l'uniformità del particolato per garantire l'ingestione di tutti i nutrienti in un unico boccone, limitare la capacità di scelta delle bovine e stimolare l'ingestione della razione (Humer *et al.*, 2018).

Di fondamentale importanza nel razionamento e nella preparazione dell'unifeed sono le caratteristiche e la produzione di foraggi di qualità, tema analizzato in molte review (Charmley, 2001; Lüscher *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2015; Südekum *et al.*, 2016), in cui si è osservata un'elevata differenza di qualità soprattutto nel fieno. Fieni di elevata qualità, con alto contenuto in carboidrati fermentabili ed elevata digeribilità possono essere utilizzati in sostituzione di una larga quota di concentrati (Kleefisch *et al.*, 2017), diminuendo così il rischio di disordini fermentativi. Oltre a ridurre l'apporto di concentrati, i foraggi di elevata qualità hanno un effetto positivo nella stratificazione dell'alimento ingerito e nel turnover ruminale, stimolando l'attività di masticazione mericica (Tafaj *et al.*, 2004). Purtroppo, a causa delle condizioni climatiche italiane, caratterizzate da primavere piovose ed estati calde e secche spesso non è possibile la produzione di fieni giovani ad elevata digeribilità (Palmonari *et al.*, 2014, 2016), rendendo inevitabile un cospicuo uso di mangimi per sopperire alle necessità energetiche delle bovine. Infatti, somministrando foraggi di alta qualità ci si aspetterebbe di mitigare anche il rischio di SARA. A prova di ciò, una meta-analisi (Zebeli *et al.*, 2006) basata su 33 studi ha messo in luce una relazione positiva tra l'impiego di foraggi di qualità e un adeguato pH ruminale. Complessivamente, è consigliabile migliorare sia l'uniformità che la qualità dell'unifeed per diminuire il rischio di SARA.

Da tutti questi contributi scientifici, si può affermare come l'assicurare efficienza e l'avvicinarsi all'utilizzazione massimale dei nutrienti, minimizzando al tempo stesso i rischi di problemi digestivi, siano

variabili fondamentali nell'equazione di una produzione di latte sostenibile e redditizia, che mettono in sfida continua l'industria del latte. Complessivamente, fornire sufficiente peNDF mentre si somministrano adeguate quantità di carboidrati fermentabili nel rumine è essenziale per assicurare la salute del complesso ecosistema ruminale e allo stesso tempo massimizzare le performance e l'efficienza alimentare. Al fine di prevenire squilibri come SARA e le sue conseguenze, ci sono provvedimenti da prendere per un adattamento appropriato del microbiota e della mucosa ruminale ad una dieta altamente energetica nel post-parto. È evidente, quindi, che la gestione dell'alimentazione gioca il ruolo principale nella prevenzione e nella gestione di tutte le problematiche alimentari, rispettando le peculiarità di ogni realtà zootecnica in base alle capacità e dimensioni (Humer *et al.*, 2018).

1.1.1 LA GRANULOMETRIA

In molti articoli è stato sottolineato il ruolo della peNDF nel prevenire le disfunzioni ruminali come SARA (Zebeli *et al.*, 2012; GfE, 2014). Il concetto di peNDF unisce le caratteristiche chimiche (fibra) e fisiche (granulometria) dell'alimento offerto ai bovini, dando un importante strumento per predire la capacità della dieta di stimolare la ruminazione e il benessere ruminale (Humer *et al.*, 2018). È necessario rispettare questo concetto sia nella formulazione di diete per bovini per stimolare l'attività masticatoria e la conseguente produzione salivare, sia per mantenere delle appropriate funzioni ruminali e un ecosistema ruminale sano (Allen, 1997; Zebeli *et al.*, 2012; Zebeli e Metzler-Zebeli, 2012).

Il contenuto in fibra fisicamente efficace (peNDF) della dieta ha la capacità di mantenere l'attività masticatoria e il benessere nel rumine. Questo è primariamente determinato dal contenuto in fibra e dalla sua granulometria in comparazione con l'ammontare di carboidrati digeribili a livello di rumine, in particolare di amidi, per unità di tempo (Zebeli e Metzler-Zebeli, 2012). È generalmente riconosciuto che la quantità e la forma fisica della fibra dietetica giocano un ruolo fondamentale nella nutrizione delle vacche da latte (Beauchemin e Yang, 2005). La fibra lunga è la principale responsabile del mantenimento dello spessore del materasso ruminale, il quale funge da sistema di selezione delle particelle (effetto filtro del materasso ruminale), e stimola le contrazioni ruminali, promuovendo il rimescolamento del contenuto ruminale e quindi l'assorbimento degli AGV, mentre regola anche il passaggio e la fuoriuscita del particolato (Tafaj *et al.*, 2004; Zebeli *et al.*, 2012; Zebeli e Metzler-Zebeli, 2012).

La granulometria rappresenta una proprietà dei foraggi molto importante, perciò misurare la distribuzione delle particelle della razione e dei residui è un metodo vantaggioso e accurato per esprimere la granulometria degli alimenti effettivamente consumati. Un metodo diffusamente accettato per la misurazione della granulometria è l'uso del Penn State Particle Separator (PSPS), un sistema di setacci che permette di setacciare l'unifeed e i residui in azienda senza bisogno di seccarli, rivelandosi versatile, pratico, veloce e adatto alla routine aziendale (Lammers *et al.*, 1996). Lo scopo del suo utilizzo è valutare il funzionamento corretto del carro miscelatore in merito al grado di omogeneità dei componenti dell'unifeed e del taglio dei foraggi lunghi.

Il PSPS è composto da tre vagli e un fondo che permettono di determinare quattro diverse frazioni: le particelle ritenute nel vaglio da 19-mm (particolato lungo); la porzione di particolato che passa attraverso il vaglio da 19-mm e viene ritenuta nel vaglio da 8-mm (particolato medio); la porzione che passa attraverso il vaglio da 8-mm e viene ritenuta in quello da 1.18-mm o 4-mm, a seconda delle versioni, (particolato fine); infine la porzione che si accumula nel fondo (particolato molto fine) (Lammers *et al.*, 1996; Kononoff *et al.*, 2003a). Dopo aver pesato le varie frazioni di alimento trattenute in ogni vaglio e calcolato le relative percentuali, è possibile avere una stima della distribuzione delle particelle di una specifica miscelata. Setacciando i residui molte volte durante la giornata e comparando le granulometrie ottenute con quella dell'alimento appena distribuito, il nutrizionista è capace di quantificare la selezione che le bovine hanno effettuato durante l'assunzione giornaliera (Nasrollahi *et al.*, 2017). Usando la percentuale di particelle trattenute nei differenti vagli, il fattore di fisicità effettiva (pef) può essere calcolato con il particolato trattenuto a >8 ($\text{pef}_{>8}$) o >1.18 ($\text{pef}_{>1.18}$) mm di lunghezza (Lammers *et al.*, 1996; Kononoff *et al.*, 2003a). Senza tenere conto del contenuto di NDF della dieta, il pef non è sufficiente per descrivere la peNDF. La peNDF può essere quindi determinata come $\text{peNDF}_{>8}$ e $\text{peNDF}_{>1.18}$ (Lammers *et al.*, 1996; Kononoff *et al.*, 2003a). Entrambe le metodologie sono appropriate per unifeed contenenti concentrati in forma sfarinata o in polvere; al contrario, la $\text{peNDF}_{>8}$ è più accurata per unifeed che utilizzano concentrati pellettati, fioccati o con elevate quantità di fibra non da foraggi ($\geq 15\%$ della SS della dieta), sottoprodotti che generalmente sono ricchi di fibre ma con fine granulometria, come cruscami, polpe di bietola pellettate e trebbie di birra o ancora con proprietà agglomerati come il concentrato solubile di frumento; in quanto tutti questi prodotti vengono totalmente o parzialmente ritenuti nel vaglio da 1.18-mm. Questo potrebbe portare a sovrastimare il valore di peNDF perché questi sono concentrati e non foraggi (Bradford e Mullins, 2012; Humer *et al.*, 2018).

In Tabella 1 sono riportate le raccomandazioni riguardanti il contenuto in $\text{peNDF}_{>1.18}$ necessario per ridurre il rischio di SARA in base al livello di sostanza secca ingerita (SSI) e al contenuto della dieta di amidi fermentabili a livello ruminale (Rumen Degradable Starch, RDS). Maggiori sono la SSI e gli RDS, maggiore deve essere la quota di $\text{peNDF}_{>1.18}$ necessaria per prevenire una diminuzione del pH ruminale. Tuttavia, è importante notare come livelli di $\text{peNDF}_{>1.18}$ sopra il 32% limitino la SSI (Zebeli *et al.*, 2008). Perciò, si dovrebbe evitare di somministrare eccessive quote di RDS ($\geq 16\%$ SS), specialmente quando la SSI ipotetica della vacca è elevata (≥ 22 kg di SS/gg). A questo riguardo va ricordato che la quota di amido degradabile nel rumine differisce significativamente tra i diversi tipi di cereali. Cereali a bassa degradabilità, come mais e sorgo (Offner *et al.*, 2003; Benninghoff *et al.*, 2015), sono da preferire per diminuire i rischi di disordini a livello ruminale, specialmente nella prima fase di lattazione, a discapito di orzo, triticale, segale e frumento. Inoltre, l'elevata quota di amido che bypassa il rumine in questi cereali può essere utilizzata più efficientemente nel duodeno, migliorando il bilancio energetico degli animali (Matthé *et al.*, 2001).

Tabella 1. Raccomandazioni nell'inclusione di particelle di granulometria >1.18 -mm ($\text{peNDF}_{>1.18}$; % della SS) nella razione di vacche in relazione alla variazione della quota di amido degradabile nel rumine (RDS) e dell'ingestione di sostanza secca (SSI) (modificato da GfE, 2014)¹.

RDS (% della SS)	Livelli di SSI (kg/giorno)			
	18	20	22	24
8	18	20	21	23
12	21	23	25	28
16	25	28	32	$>32^2$
20	32	$>32^2$	$>32^2$	$>32^2$

¹Le raccomandazioni sono derivate dall'equazione del pH ruminale di 6.2 che segue: $\text{pH Ruminale} = 6.05 + 0.044 \times X_1 - 0.0006 \times X_1^2 - 0.017 \times X_2 - 0.016 \times X_3$, dove $X_1 = \text{peNDF}_{>1.18}$ (% SS), $X_2 = \text{RDS}$ da cereali nella razione (% SS), $X_3 = \text{SSI}$ (kg/g); errore quadratico medio = 0.11, $R^2 = 0.66$ e $P < .01$ (Zebeli *et al.*, 2008).

² $\text{peNDF}_{>1.18}$ contenuti $>32\%$ possono limitare la SSI potenziale delle vacche, quindi il livello di SSI atteso può non essere raggiunto.

Le raccomandazioni relative alla distribuzione delle particelle a diversa granulometria dell'unifeed schematizzate in Tabella 2, mostrano che la maggior parte delle particelle (80 – 90 %) dell'unifeed si ritrova tra 1.18 e 19 mm, con la frazione media e fine equamente rappresentate quando i concentrati sono somministrati sotto forma di farine (Heinrichs e Kononoff, 2002). Quando i concentrati sono pellettati (PMR), la proporzione di particelle fini tra 1 – 1.18 mm è maggiore delle particelle tra 8 e 19 mm perché i concentrati pellettati non passano il setaccio da 1.18-mm. Solo una piccola quota di particelle > 19 mm o < 1.18 mm dovrebbero essere contenute nell'unifeed (Heinrichs e Kononoff, 2002). Questa distribuzione è di primaria importanza perché un'elevata percentuale di particelle > 19 mm diminuisce l'omogeneità dell'unifeed e permette la selezione da parte dei bovini.

Tabella 2. Raccomandazioni sulla distribuzione della granulometria dell'unifeed quando i concentrati sono offerti sotto forma di sfarinati (TMR 1), pellettati (TMR 2) o quando la dieta è offerta come razione parziale (partial mixed ration, PMR) (modificato da Heinrichs e Kononoff, 2002).

Frazioni di particolato	Diametro Vaglio	TMR 1 (%)	TMR 2 (%)	PMR (%)
Particolato grande	> 19 mm	3 - 8	3 - 8	15 - 25
Particolato medio	8 – 19 mm	30 - 40	35 - 45	35 – 65
Particolato fine	1.18 – 8 mm	30 - 40	40 - 50	15 – 25
Particolato molto fine	< 1.18 mm	< 20	< 10	< 8

Le raccomandazioni nella distribuzione della granulometria dell'unifeed cosiddetto parziale (PMR) sono riportate in Tabella 2, dove il particolato tra 8 e 19 mm ha la maggior rilevanza. Una quota maggiore di particelle > 19 mm nella dieta rispetto a quelle indicate in favorisce la selezione, diminuisce l'ingestione, ma soprattutto diminuisce l'ingestione in peNDF. Tuttavia, è molto difficile stabilire delle linee guida per queste diete basate su unifeed di base più supplementi di concentrati, considerate le differenze nelle densità energetiche dell'ingerito totale delle bovine a seconda delle loro produzioni (Humer *et al.*, 2018).

In Tabella 3 è indicata la quota di peNDF > 8 necessaria per evitare SARA, che dipende fortemente dal contenuto totale di amidi della dieta e dalla quantità di sostanza secca ingerita. Ancora una volta si sottolinea come eccessive quote di peNDF (esempio, >18% di peNDF > 8) tendano a deprimere l'ingestione e, pertanto, dovrebbero essere evitate. La stima dell'adeguato contenuto di fibra della dieta complessiva in questo sistema di alimentazione risulta piuttosto difficoltoso. Molto importante è il calcolo dei concentrati addizionali, somministrati mediante alimentatori automatici o robot di mungitura, che hanno un effetto diretto sul calcolo della peNDF della dieta complessiva giornaliera. Va ricordato che la quota addizionale di concentrati modifica la granulometria e il contenuto in fibra di tutta la dieta: per ogni chilo di concentrati somministrati, approssimativamente il 2% delle particelle deve essere sottratto dalla frazione >19 mm, per essere addizionato alla frazione <8 mm. Questo significa che se una vacca assume 6 kg/giorno di concentrati supplementari, la

frazione >19 mm diventa inferiore del 12% mentre la quota <8 mm aumenta del 12%. Lo stesso succede per il contenuto di NDF della dieta, anche se il contenuto di NDF del supplemento deve essere preso in considerazione nel calcolo dell’NDF e della peNDF > 8 totali (Humer *et al.*, 2018). Inoltre, per ogni chilo di concentrato offerto, le bovine riducono l’ingestione dell’unifeed di base, andando a ridurre l’ingestione di peNDF > 8. Sebbene un esatto calcolo della minore ingestione di unifeed dovuto alla maggiore ingestione di supplemento sia difficile da eseguire in una realtà aziendale, i dati suggeriscono che il differenziale si attesti tra 0.3 e 1 kg di SS da foraggi (dipendendo dalla qualità dei foraggi e dalla qualità complessiva dell’unifeed) per ogni chilo di SS di supplemento assunto (Faverdin *et al.*, 1991; Bach *et al.*, 2007; Vibart *et al.*, 2008; Ho *et al.*, 2013). In generale, la SSI da foraggi dell’unifeed di base, e quindi la sua diminuzione, dipendono largamente dalla loro qualità e appetibilità.

Tabella 3. Raccomandazioni nel quantitativo di fibra fisicamente efficace basata su granulometrie > 8 mm (peNDF >8; % della SS) in razioni di bovine da latte in relazione al contenuto di amido e alla SSI (modificato da GfE, 2014)¹.

Ingestione di Amidi (% della SS)	Livelli di SSI (kg/giorno)			
	18	20	22	24
14	12	13	15	16
18	14	15	17	18
22	16	17	19 ²	21 ²
26	18	20 ²	22 ²	22 ²

¹Le raccomandazioni sono derivate usando l’equazione del pH ruminale di 6.2 che segue: pH Ruminale = 6.19 + 0.0438 × X₁ - 0.000847 × X₁² - 0.00928 × X₂ - 0.01341 × X₃, dove X₁ = peNDF >8 (% SS), X₂ = contenuto totale di amidi della dieta (% SS), X₃ = SSI (kg/g); errore quadratico medio = 0.11, R² = 0.65 e P < .01 (Zebeli *et al.*, 2010).

²peNDF >8 contenuti >18% possono limitare la SSI potenziale delle vacche, quindi il livello di SSI atteso può non essere raggiunto.

1.1.2 IL COMPORTAMENTO ALIMENTARE

È risaputo che sia le tecniche di somministrazione degli alimenti, in particolare unifeed e supplimenti, che la quota di peNDF con il relativo rischio di SARA, possono impattare sul comportamento alimentare delle bovine in allevamento.

I bovini in natura hanno comportamento pascolativo e gregario, sono animali sociali che tendono alla vita di gruppo all'interno del quale riconoscono una gerarchia, stabilendo quella che viene chiamata la “vacca dominante” (Fraser e Herchen, 1979). Vi sono poi le vacche cosiddette “subordinate” che tendono a copiare il comportamento del leader; spesso infatti si osserva come l'intero gruppo esegua la medesima azione che sia alimentarsi o riposare.

L'attività pascolativa dei bovini è prevalentemente diurna e si suddivide in diversi pasti, identificando il pasto principale come quello effettuato all'alba (Hancock, 1950; Hafez e Bouissou, 1975; Fujihara, 1981). In natura le vacche tendono ad alimentarsi circa 8 volte al giorno con variazioni che dipendono da svariati fattori come le ore di luce, la temperatura ambientale, al cui aumentare diminuisce l'ingestione di alimento come dimostrato da Pearce e Moir nel 1964, lo stato fisico, l'età e il tipo di alimento. Le vacche al pascolo trascorrono dalle 7 alle 13 ore al giorno ad alimentarsi; quando invece sono allevate in modo intensivo questo tempo si riduce considerevolmente passando a circa 3 – 5 ore al giorno (Dado e Allen, 1994; Hosseinkhani *et al.*, 2008), diviso in 6-10 pasti dei quali il principale è al momento dello scarico dell'unifeed fresco (DeVries *et al.*, 2003). È stato dimostrato che il massimo benessere per le bovine si ottiene quando possono stare in decubito per almeno 12 – 14 ore al giorno, che favorisce il tempo di ruminazione e riduce l'incidenza delle patologie podali. Durante il decubito gli animali riducono il loro fabbisogno energetico, migliora la circolazione di sangue alla mammella e viene favorito un aumento della produzione (Dado e Allen, 1994). Quest'ultima incide direttamente sulla quantità di sostanza secca ingerita, non modificando il numero totale di pasti giornalieri ma portando ad una maggior quantità ingerita ad ogni pasto (Dado e Allen, 1994).

Viene generalmente ritenuto che le bovine in lattazione presentano un *pattern* diurno di assunzione alimentare e uno notturno di ruminazione (Schirmann *et al.*, 2012). Molti aspetti relativi a questi comportamenti sono regolati da ritmi circadiani che permettono il coordinamento tra la fisiologia della bovina e l'ambiente esterno, incluse le routine di somministrazione dell'alimento e di mungitura. La ruminazione inoltre sembra avere variazioni quando le bovine sono mantenute sotto condizioni costanti di illuminazione (Gordon e McAllister, 1970). Il pH ruminale segue il comportamento alimentare con una graduale caduta durante il giorno, soprattutto dopo la somministrazione mattutina e meno dopo il pasto serale, seguita da una graduale risalita notturna (Kononoff *et al.*, 2003b). Questa variazione diurna di pH e ingestione sono inversamente relazionate, dimostrando che l'effetto dei carboidrati fermentabili diventa maggiore durante il giorno dopo lunghi periodi di assunzione di alimento. Tentativi di diluire le fluttuazioni di pH somministrando alimenti con alto contenuto di fibre durante il giorno e alto tenore in carboidrati fermentescibili alla sera non ha avuto successo in quanto le vacche hanno modificato il loro comportamento di assunzione della razione (Ying *et al.*, 2015). Inoltre,

diversi studi hanno guardato alla modificazione di questo pattern di ruminazione e pH sostituendo le fonti e cambiando i livelli di fibra, amido e grassi, ma con scarsa efficacia (Salfer *et al.*, 2018). Altri studi mostrano che le bovine sembrano capaci di modificare il comportamento alimentare secondariamente al cambio del pH ruminale. Keunen *et al.* (2002), hanno notato che vacche in lattazione a cui era stata indotta acidosi ruminale sub acuta (SARA) hanno incrementato le loro preferenze per il fieno lungo di medica rispetto al pellettato. Ancora, si è dimostrato come le medesime preferenze siano risultato di un basso pH ruminale (Maulfair *et al.*, 2013; Kmicikewycz e Heinrichs, 2014) nella possibilità in cui le vacche abbiano la capacità di selezionare l'unifeed a favore di particelle più lunghe. Le vacche hanno modificato dunque le loro preferenze durante gli episodi di SARA per poi tornare a comportamenti normali quando il pH ruminale si è ristabilito su valori fisiologici (Maulfair *et al.*, 2013).

Il tempo di assunzione di alimento (eating time) e il tempo di alimentazione, o per meglio definirlo l'intero pasto (feeding time), differiscono secondo quanto riportato da Beauchemin (2018). Infatti, il feeding time è il tempo complessivo passato alla mangiatoia, che comprende anche i periodi di inattività oltre al tempo speso ad ingerire alimento. Invece l'eating time si riferisce solo al tempo utilizzato alla prensione, masticazione e deglutizione dell'alimento. I pasti che vengono compiuti infatti comprendono sia momenti di attiva assunzione dell'alimento che i momenti di non assunzione; nell'insieme questi, ammontano a circa il 30–50% del tempo totale speso ad alimentarsi. Le potenzialità di queste nuove tecnologie sono ben espresse nello studio di De Mol *et al.* (2016) che comprende 515 vacche da latte in 7 differenti prove per un totale di più di 1.2 milioni di visite alla mangiatoia registrate con un numero medio di 7.7 pasti al giorno, ed un criterio di separazione minimo di 29 minuti tra i pasti. Da sottolineare che il criterio di separazione tra i pasti influisce molto sul numero di pasti che in totale si possono registrare nella giornata, e che un criterio inferiore (ad esempio 20 minuti) porterebbe, nello studio sopra citato, a conteggiare un numero maggiore di pasti.

Il tempo che le vacche spendono mangiando è molto variabile tra le diverse prove sperimentali presenti in bibliografia. In una recente review di White *et al.* (2017) viene riportato un eating time medio di 284 min/giorno (n = 182), con un range tra 141 e 507 min/giorno (Tabella 4). Parte della variabilità tra gli studi è dovuta ai differenti criteri utilizzati per definire il tempo di assunzione dell'alimento, ma deriva soprattutto dal management aziendale, dalla SSI, dalla composizione fisica e chimica della dieta e dalla variabilità individuale tra animali che influenzano fortemente il comportamento alimentare.

Tabella 4. Sintesi dei dati medi di SSI, attività masticatoria e pH da White *et al.* (2017) e Zebeli *et al.* (2006).

Parametri	No.	Media	DS	Minimo	Massimo
<i>White et al.</i> (2017)					
SSI, kg/gg	224	22.7	3.3	14.7	31.6
Latte prodotto, kg/gg	197	34.1	7.4	14.2	51.3
Tempo di masticazione, min/gg					
Assunzione di alimento	182	284	77.3	141	507
Ruminazione	179	436	68.4	236	610
Totale	175	717	115	396	973
pH medio	181	6.12	0.27	5.44	6.83
<i>Zebeli et al.</i> (2006)					
SSI, kg/gg	131	23.0	1.9	16.9	28.3
Latte prodotto, kg/gg	131	34.9	5.84	23.1	49.3
Tempo di masticazione, min/gg					
Assunzione di alimento	NR ¹				
Ruminazione	99	434	82.5	151	632
Totale	99	691	111.4	425	969
pH medio	100	6.09	0.20	5.30	6.59

¹NR: non riportato

Nonostante vengano studiate delle razioni sempre più complete e precise c'è un fattore etologico che non può essere trascurato: l'inclinazione naturale del bovino alla selezione di alcuni alimenti. Lo studio condotto da Rutter *et al.* nel 2004 ha dimostrato come, se lasciate libere, le vacche tendono a variare il tipo di foraggio

ingerito (lo studio è stato condotto su monoculture di graminacee e leguminose). Non ne è ben chiara la motivazione, ma gli autori suggeriscono ci possa essere una scelta dell'animale al fine di mantenere una costante e corretta attività ruminale. Tale evenienza si riflette anche sulle vacche stabulate perchè, nonostante il piatto unico sia ideato come miscela omogenea, è possibile riconoscere al suo interno una certa variabilità nella granulometria. Questo fa sì che, all'interno della miscelata, le vacche siano in grado di selezionare alcuni alimenti più appetibili, solitamente concentrati, a discapito dei foraggi fibrosi (Leonardi e Armentano, 2003), alterando l'equilibrio della razione e favorendo l'insorgenza di sub acidosi (DeVries *et al.*, 2008). La selezione avviene con movimenti rotatori del capo e di allungamento del collo con successiva dispersione della razione, costringendo l'operatore ad avvicinare continuamente il cibo allontanato.

Alcuni autori sostengono che la selezione sia anche un meccanismo di salvaguardia del rumine; è infatti appurato che in presenza di SARA l'animale tende ad assumere bicarbonato di sodio, se disponibile, (Cooper *et al.*, 1996), a scegliere particelle più lunghe all'interno dell'unifeed (Maulfair *et al.*, 2010) o fieno lungo se disponibile (Keunen *et al.*, 2002). Al contrario, secondo altri autori (DeVries *et al.*, 2007), le bovine non regolano la selezione in base alle proprie esigenze fisiologiche. In tale studio sono state somministrate due diete a due gruppi di bovine, una di controllo ed una con un basso contenuto di foraggio ed è stato evidenziato che il tasso di selezione era maggiore proprio nel gruppo con dieta scarsa di foraggio, aumentando così il rischio di acidosi e sottolineando l'importanza di fornire una razione correttamente bilanciata. Data quindi la tendenza delle vacche a selezionare le piccole particelle di concentrati della dieta, una non corretta distribuzione della granulometria permette l'ingestione di una maggiore quantità di alimenti facilmente fermentabili a livello ruminale rispetto a quella pianificata all'atto del razionamento (Kleen *et al.*, 2003; Dohme *et al.*, 2008). Una cernita dell'unifeed da parte delle bovine riduce i rapporti nutritivi dell'unifeed che rimane in mangiatoia, a favore dei foraggi; questo può avere effetti negativi per gli animali subordinati del gruppo nel caso in cui accedano alla corsa di alimentazione dopo le dominanti, con il rischio di andare incontro a deficit di nutrienti (DeVries e von Keyserlingk, 2005; Hosseinkhani *et al.*, 2008).

Un altro fattore determinante è la disponibilità di uno spazio minimo in mangiatoia per animale, che diminuisce la competizione tra le bovine evitando così che le vacche "subordinate" si alimentino solo dopo le "dominanti" e trovino un alimento che è già stato selezionato in precedenza (Hosseinkhani *et al.*, 2008). Invece in condizioni di assenza di competizione e disponibilità *ad libitum* di alimento, la velocità di assunzione di alimento è alta dopo la nuova distribuzione e scende nel corso della giornata a mano a mano che l'appetito è soddisfatto (Suzuki *et al.*, 1969) e la produzione salivare diminuisce (Bailey, 1961); questo si verifica in modo particolare con diete ricche in fibra. Le bovine aumentano l'intensità di alimentazione in misura tale che la quantità di alimento e/o l'accesso ad esso diminuisce (Campling e Morgan, 1981). Situazioni di competizione alimentare incrementano il tasso di alimentazione (kg di SS/min) e diminuiscono il tempo totale speso ad alimentarsi ogni giorno (Proudfoot *et al.*, 2009). La sostanza secca ingerita può anche diminuire in situazioni di competizione alla mangiatoia o di limitato tempo di accesso ad essa se l'incremento nel tasso di assunzione non riesce pienamente a compensare tale restrizione (Munksgaard *et al.*, 2005). In aggiunta, le pluripare assumono più

rapidamente l'alimento rispetto le primipare (Dado e Allen, 1994), quindi la restrizione alimentare alla mangiatoia sortirebbe effetti maggiori in vacche più giovani e generalmente di atteggiamento recessivo. Dunque il tempo totale di alimentazione e il pattern di pasti giornalieri dipende principalmente dall'accesso libero e costante all'alimento. Anche la composizione della dieta influisce sul comportamento alimentare ma in misura minore. Le vacche modificano il loro comportamento alimentare per consumare una maggiore quantità di alimento nel minor tempo se necessario, il che indirettamente permette loro una maggiore competizione per la risorsa alimentare e di mantenere la SSI (Crossley *et al.*, 2017).

Legato a questo aspetto è importante la frequenza della somministrazione (ottimale tra 2 e 4 volte al giorno), dato che la distribuzione di alimento fresco è lo stimolo primario che attrae le vacche alla mangiatoia (DeVries e von Keyserlingk, 2005; DeVries *et al.*, 2005; Macmillan *et al.*, 2017). Infatti, la maggiore attività di alimentazione è sempre successiva alla distribuzione del nuovo alimento (King *et al.*, 2016) o all'avvicinamento dello stesso (Miller-Cushon e DeVries, 2017) in condizioni di stabulazione libera. Un'elevata frequenza nella distribuzione e nell'avvicinamento dell'alimento non riduce solo la cernita da parte delle bovine, ma anche accresce la disponibilità di alimento e il tempo totale utilizzato per alimentarsi, portando ad una ingestione più uniforme durante la giornata (DeVries *et al.*, 2005). Quindi una frequente distribuzione dell'unifeed tende a favorire l'attività di alimentazione con un maggior numero di pasti più equamente distribuiti nella giornata, ma la SSI non necessariamente incrementa (Miller-Cushon e DeVries, 2017). Una distribuzione dei pasti più uniforme durante la giornata promuove dunque delle condizioni fermentazione più stabili (González *et al.*, 2012; Macmillan *et al.*, 2017) come anche un'assunzione di nutrienti più bilanciata.

Per completezza deve essere considerata l'alta variabilità individuale nella suscettibilità alle diete molto fermentescibili. Molti studi hanno dimostrato che le vacche rispondono diversamente nelle dinamiche di pH ruminali quando ricevono la stessa dieta ricca in concentrati (Gao e Oba, 2014; Humer *et al.*, 2015b). Un differente comportamento di selezione della razione può essere la spiegazione alle grandi differenze individuali, in quanto vacche SARA suscettibili sembrano avere una propensione maggiore a selezionare il particolato fine (Gao e Oba, 2014). È quindi importante promuovere l'utilizzo di sistemi di monitoraggio per identificare precocemente animali ad alto rischio al fine di applicare apposite soluzioni di gestione e, se necessario, trattamenti individuali. A parte l'osservazione del singolo animale, un metodo pratico per identificare animali a rischio in fase precoce è quello di monitorare l'attività di ruminazione. Recentemente, molti strumenti elettronici sono stati proposti sul mercato con il fine di oggettivare e misurare il comportamento alimentare nelle vacche da latte (Büchel e Sundrum, 2014; Ambriz-Vilchis *et al.*, 2015; Kröger *et al.*, 2016).

Grazie alle recenti innovazioni tecnologiche che in ambito di ricerca è possibile registrare il comportamento alimentare delle bovine, così da aumentare la comprensione di molti aspetti che fino a poco tempo fa non era possibile studiare.

1.2 FUNZIONALITÀ RUMINALE

Razionare per vacche da latte ad elevata produzione significa massimizzare la conversione degli alimenti somministrati in metaboliti energetici e substrati strutturali adeguati a far fronte alle elevate richieste nutrizionali dell'organismo. La frazione di sostanza organica costituita da carboidrati fermentabili a livello ruminale in un tipico unifeed è composta da circa una metà di fibra e una seconda metà di carboidrati non strutturali (NSC). La quota di NSC è costituita in proporzione maggiore da amidi derivanti dai cereali. La sostanza organica fermentabile a livello ruminale è il substrato per la proliferazione del microbiota ruminale e la conseguente produzione di proteina microbica (Lanzas *et al.*, 2007), che è la fonte predominante di amminoacidi del bovino. Inoltre, la maggior parte delle fermentazioni e la più efficiente degradazione della fibra avvengono nel rumine, grazie alle quali il bovino ricava $\geq 30\%$ del suo fabbisogno energetico attraverso l'assorbimento degli AGV di derivazione microbica. Tuttavia, la produzione di AGV (primariamente acetato, propionato e butirato) non deve eccedere la capacità ruminale di assorbirli e di tamponarli durante la giornata, richiedendo un accurato bilanciamento per non incorrere in alterazioni del pH ruminale (Steele *et al.*, 2011).

Gli AGV sono assorbiti, in maggior parte, direttamente tramite l'epitelio squamoso stratificato del rumine sia per diffusione che tramite carrier proteici e utilizzati come fonte energetica o substrato dall'ospite (Aschenbach *et al.*, 2010, 2011). L'assorbimento degli AGV è un processo fisiologico essenziale, non solo per l'efficienza energetica di conversione degli alimenti, ma anche per prevenire l'eccessiva acidificazione del contenuto ruminale (Gäbel *et al.*, 2002; Penner *et al.*, 2009). Da una parte quindi, l'assorbimento degli AGV attraverso l'epitelio ruminale assicura un diretto recupero di substrati energetici e di precursori glucidici dal rumine al torrente ematico dell'animale. Dall'altra, un buon assorbimento permette l'estrazione di protoni e lo scambio degli AGV con ioni bicarbonato dal lume ruminale (Aschenbach *et al.*, 2011), contribuendo a tamponare il contenuto ruminale. Da entrambe le prospettive, è di grande interesse stimolare l'uptake proteico mediato e il metabolismo intracellulare degli AGV da parte della mucosa ruminale, obiettivo che rimane il focus di molte ricerche (Penner *et al.*, 2011; Schurmann *et al.*, 2014; Steele *et al.*, 2015).

Rispetto agli AGV il lattato è un acido più forte (la costante di dissociazione acida è $pK_a = 3.9$ contro i 4.8 dei AGV; Cistola *et al.*, 1982; Kohn e Dunlap, 1998), in grado di influenzare maggiormente l'equilibrio acido – base del rumine. Sebbene studi effettuati sulle pecore abbiano identificato trascurabili quantità di trasportatori del lattato sulla membrana apicale dell'epitelio squamoso (Aschenbach *et al.*, 2009), più recenti studi condotti in vitelloni e vacche da latte indicano l'abilità della mucosa ruminale di assorbire piccole quantità di lattato durante lunghi periodi di condizioni di ambiente acidificato (Schwaiger *et al.*, 2013a; Kumar *et al.*, 2016). Nonostante questo sembri essere una reazione a corto termine della mucosa nel tentativo di diminuire l'acido prodotto durante la somministrazione di diete ricche in concentrati amilacei, vi è un evidente adattamento della mucosa ruminale al recupero degli AGV e alla regolazione dell'equilibrio acido – base nel bovino (Schwaiger *et al.*, 2013a, b; Kumar *et al.*, 2016).

La secrezione di saliva, grazie al suo contenuto di bicarbonati, ha un effetto alcalinizzante ed è indispensabile per il processo fisiologico di regolazione dell'equilibrio acido – base (Allen, 1997; Chibisa *et al.*, 2016). Sebbene l'assorbimento di AGV sia il meccanismo predominante per contrastare lo sviluppo dell'acidosi (Penner *et al.*, 2009), le secrezioni di saliva aumentano dopo un episodio di acidosi, come a compensare l'alterato assorbimento AGV e tamponare il danneggiamento della mucosa ruminale (Schwaiger *et al.*, 2013a). Le secrezioni di saliva misurate in razze di vacche ad alta produzione sono impressionanti e arrivano a ~250 L/gg (Maekawa *et al.*, 2002; Bowman *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2017). Tuttavia, la somministrazione di diete a basso contenuto di peNDF determina una depressione lineare dell'attività masticatoria (Zebeli *et al.*, 2010). È noto che la produzione di saliva sia maggiore durante la ruminazione e l'assunzione di alimento rispetto ai momenti di riposo (1.8 e 1.2 volte maggiore nella ruminazione e assunzione di alimento rispetto al riposo); infatti la ridotta attività masticatoria causa una conseguente diminuzione nelle secrezioni alcalinizzanti di saliva, venendo a mancare un meccanismo di regolazione del pH (Cassida e Stokes, 1986; Kröger *et al.*, 2017). Considerata l'importanza, dovrebbero essere messe a punto strategie alimentari in grado di stimolare l'attività masticatoria, e di conseguenza le secrezioni salivari, durante le fasi intense di fermentazione ruminale (Kröger *et al.*, 2017). Questo contribuirebbe a prevenire l'eccessiva acidificazione del contenuto ruminale e lo sviluppo di SARA.

In aggiunta a questi meccanismi, devono essere considerati i recettori sensoriali meccanici (meccanocettori). Essi sono stimolati attivamente dallo sfregamento tattile delle particelle di fibra e passivamente dalla distensione del rumine, dovuta all'effetto "ingombro" che la fibra produce, e promuovono la motilità ruminale (Zebeli *et al.*, 2012). Storm e Kristensen (2010) suggeriscono che la barriera maggiore tra produzione e assorbimento di AGV attraverso la parete ruminale sia il movimento degli AGV neoprodotti dalle regioni mediali del rumine (dal materasso del rumine alla fase liquida) grazie alla quale gli AGV entrano in contatto con la mucosa ruminale. Il flusso ematico è un altro elemento regolatore dell'assorbimento degli AGV (Storm *et al.*, 2012) e un incremento della peNDF può risultare in un aumento del flusso ematico associato alle contrazioni ruminali. Quindi fornire adeguati livelli di peNDF è necessario non solo per stimolare le secrezioni salivari ma anche per la motilità ruminale, la quale promuove l'assorbimento degli AGV, e per l'eruttazione con espulsione dei gas prodotti, prevenendo il meteorismo ruminale.

Di conseguenza, un buon adattamento e assorbimento degli AGV attraverso la mucosa ruminale (Penner *et al.*, 2011) e un'efficiente secrezione salivare (Chibisa *et al.*, 2016) sono di centrale importanza per mantenere un pH ruminale ottimale e in salute tutto l'animale.

1.2.1 PREVALENZA DI SARA

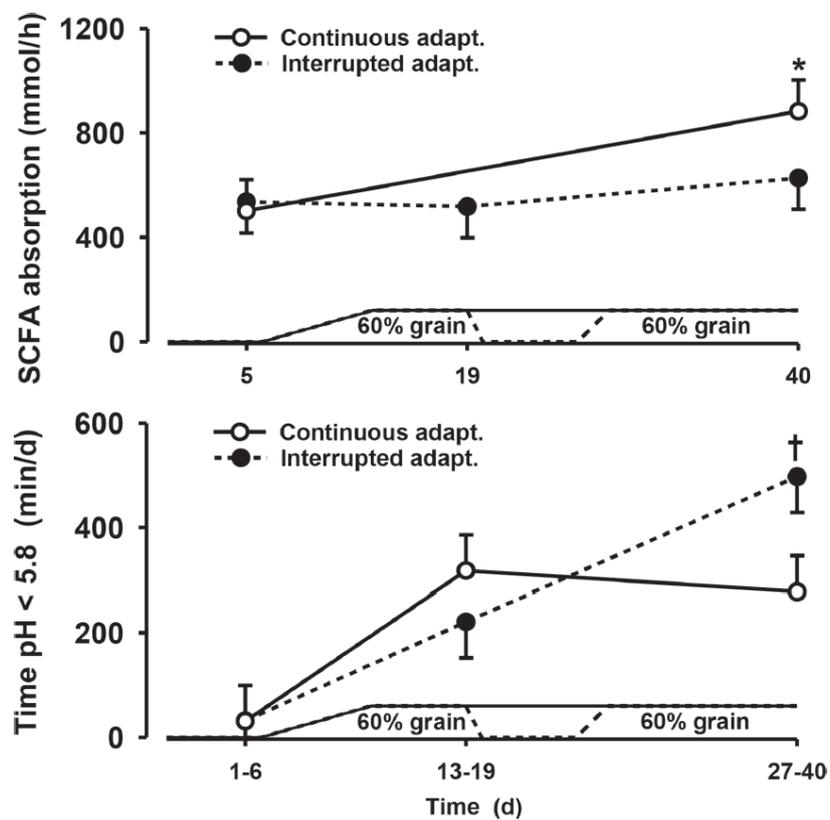
Il fallimento nel mantenere un appropriato bilancio acido – base porta ad un accumulo intraruminale di protoni e di conseguenza una caduta del pH sotto il fisiologico intervallo (pH 6.0 - 7.0); tale condizione è comunemente definita sub acidosi ruminale acuta, SARA (Krause e Oetzel, 2006; Plaizier *et al.*, 2008; Zebeli *et al.*, 2012).

Le fasi in cui generalmente le bovine da latte sono più a rischio di SARA sono l’inizio e la fase intermedia della lattazione (Humer *et al.*, 2018). All’inizio della lattazione, durante la fase di passaggio da una dieta elevata in peNDF ad una ad elevata densità energetica, soprattutto se eseguita in modo repentino, si può superare la capacità di assorbimento, metabolizzazione e neutralizzazione delle valenze acide da parte della parete ruminale (Aschenbach *et al.*, 2011). Le vacche che sviluppano episodi di SARA nel post-parto hanno un tempo di recupero tra i 3 (Dohme *et al.*, 2008) e i 7 giorni (Pourazad *et al.*, 2016) e il grado di gravità dell’episodio avvenuto in questa fase determinerà il rischio di recidive nelle fasi successive (Humer *et al.*, 2018). Le diete somministrate durante la prima fase di asciutta, definite “far-off”, sono comunemente ad elevato contenuto di foraggi e peNDF e contengono basse proporzioni di concentrati, in particolare di amidi; questo risulta in un adattamento del rumine, con papille più corte e un microbiota ruminale composto prevalentemente da batteri cellulosolitici (Palmonari *et al.*, 2010; McCann *et al.*, 2014; Steele *et al.*, 2015; Dieho *et al.*, 2017). La somministrazione di una dieta più ricca di concentrati nelle ultime settimane di asciutta, definita “close-up”, ha lo scopo di preparare il rumine e tutto il metabolismo ad una maggiore efficienza, con riscontri positivi anche sulle produzioni e sulla qualità del colostro (Humer *et al.*, 2018). Questo viene messo in pratica somministrando foraggi di migliore qualità, gli stessi che poi saranno somministrati in lattazione, e moderate quantità di concentrati ricchi in amidi, proteine, coprendo sempre i fabbisogni in minerali e vitamine. Il punto debole sull’effetto protettivo di questo approccio alimentare è la forte depressione dell’ingestione che si ha nell’ultima fase di gestazione. Infatti, una bassa ingestione, seguita da un brusco incremento della capacità di ingestione può indurre acidosi ruminale (Albornoz *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013, Humer *et al.*, 2018). Come riportato da Humer *et al.* (2015b), incrementare gradualmente la quota di concentrati nel post-parto determina un migliore adattamento del microbiota ruminale durante i primi 30 giorni di lattazione; l’adattamento graduale diventa ancora più importante se si utilizzano concentrati ricchi in amidi, come avviene nella pratica quotidiana della maggior parte delle realtà zootecniche.

È assodato che la mucosa cheratinizzata del rumine necessita di 4 - 6 settimane per adattarsi ad una dieta ricca in concentrati, grazie all’aumento della superficie assorbente e alla capacità funzionale di far fronte ad un improvviso aumento di AGV (Bannink *et al.*, 2012; Dieho *et al.*, 2016); invece, il mutamento del microbiota, con un calo delle popolazioni cellulosolitiche (*Fibrobacter* e *Ruminococcaceae*) e un aumento delle popolazioni che fermentano gli amidi (*Prevotella*), avviene solitamente in 3 settimane (Palmonari *et al.*, 2010; Dieho *et al.*, 2016, 2017; Wetzels *et al.*, 2017). Come mostra la Figura 1, un recente studio, riportato in Humer *et al.* (2018), ha rivelato come l’adattamento continuativo ad una dieta ricca in concentrati permetta di aumentare l’assorbimento di acidi grassi a corta catena (SCFA) o AGV e come questo effetto si sia riflesso in

una migliore dinamica del pH, rispetto a quando la dieta alta in concentrati veniva somministrata in maniera discontinua, dato confermato anche da studi precedenti (Pourazad *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2016). Quindi, un periodo di adattamento di almeno 4 - 5 settimane ad una dieta più ricca di concentrati sembra essere di notevole importanza in termini di adattamento e prevenzione di SARA.

Figura 1. Assorbimento di AGV (SCFA) e minuti di pH reticolare sotto i 5.8 in vacche da latte adattate ad una dieta ricca in concentrati in maniera continua (Continuous adapt.) o interrotta da 1 settimana di somministrazione di fieno (Interrupted adapt.). * e † indicano differenze di $P < 0.05$ e $P < 0.01$, rispettivamente, tra somministrazione continua e interrotta (modificato da Pourazad *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2016). Le barre di errore indicano il SEM.



In letteratura viene riportata una elevata incidenza di SARA anche nella fase centrale di lattazione (Nordlund *et al.*, 1995; Stone, 2004). In questa fase la sostanza secca ingerita (SSI) è ai massimi livelli ed i molteplici fattori di rischio sono primariamente collegati a fattori di gestione, come la formulazione della dieta con contenuti di amidi eccessivi o di peNDF insufficienti, una bassa frequenza di somministrazione dell'alimento, un'eccessiva processazione dei mangimi (Nordlund *et al.*, 1995; Oetzel, 2000), l'assunzione di pasti abbondanti (~4 kg/pasto) durante la giornata (Erickson *et al.*, 2003; Macmillan *et al.*, 2017), o la capacità delle bovine di selezionare la dieta, specialmente durante le prime 6 ore dopo il nuovo scarico dell'unifeed (Nasrollahi *et al.*, 2017). In un recente studio, Macmillan *et al.* (2017) hanno osservato che le vacche ad alto rischio SARA (indice di rischio basato sul rapporto tra area di pH sotto i 5.8 e SSI) trascorrono più tempo a mangiare nelle 8 ore successive la distribuzione dell'alimento rispetto quelle a basso rischio (186 vs 153 min); inoltre, mangiano meno nelle 8 ore precedenti alla distribuzione di nuovo alimento (19 vs 43 min).

1.3 MONITORAGGIO DELLA FUNZIONALITÀ RUMINALE

I problemi di salute nella prima fase di lattazione coinvolgono una consistente porzione delle vacche da latte, con risvolti negativi sulla loro salute, benessere e performance (Ingvartsen, 2006). I disordini metabolici e digestivi come la chetosi, la dislocazione dell'abomaso e le indigestioni sono determinanti per il benessere della vacca lattifera e il bilancio dell'azienda da latte perché causano perdite di produzione latte (Gröhn *et al.*, 1998; Bareille *et al.*, 2003; Edwards e Tozer, 2004), incremento della percentuale di riforma involontaria (Gröhn *et al.*, 1998; Pinedo *et al.*, 2010; Seifi *et al.*, 2011), incremento nei costi di trattamento (Kaneene e Hurd, 1990; Bartlett *et al.*, 1995), e diminuzione delle performance riproduttive (Raizman e Santos, 2002; Ribeiro *et al.*, 2013; Vercouteren *et al.*, 2015).

Nell'organizzazione aziendale inoltre, il peso delle malattie metaboliche e digestive è esacerbato dai costi addizionali in termini di mezzi e personale necessari per monitorare la mandria e identificare questi disordini (McArt *et al.*, 2015). Sebbene l'intensità dei programmi di monitoraggio vari ampiamente tra le aziende, sono comuni dei protocolli che prevedano la sistematica valutazione dello stato di salute una o due volte al giorno, dalla prima alla terza settimana dopo il parto (Risco e Melendez Ratamal, 2011; Espadamala *et al.*, 2015). Questi protocolli possono includere la valutazione dell'attitudine, appetito, locomozione e temperatura rettale, come anche dell'auscultazione, palpazione e prelievi ematici per test di campo o di laboratorio (LeBlanc, 2010; Risco e Melendez Ratamal, 2011). Svolgere queste manualità e test diagnostici su un consistente numero di vacche può portare a consumare molto tempo e lavoro. Inoltre, il monitoraggio del comportamento animale è spesso effettuato quando gli animali sono in auto-cattura, durante le pratiche veterinarie, quindi il risultato è viziato da fattori esterni che lo modificano.

A questo proposito, i sistemi automatici di monitoraggio dei comportamenti animali e dei parametri fisiologici tramite l'utilizzo di sensori non invasivi può aiutare a ridurre il tempo e i costi dei programmi di monitoraggio sanitario aziendali. Questi sensori generano dati che possono essere utilizzati da soli e in aggiunta ai tradizionali protocolli sopra illustrati (Rutten *et al.*, 2013; Lukas *et al.*, 2015). L'utilizzo di questi sistemi di monitoraggio, costituiti ad oggi da boli, collari, auricolari, podometri wireless permette di ottenere, con la minima invasività, una registrazione in tempo reale con un lavoro molto esiguo, andando a costituire un importante strumento predittivo, per esempio del momento del parto o di stadi precoci di patologia (Humer *et al.*, 2015b). Per di più, i sistemi di monitoraggio continuo dei comportamenti e parametri fisiologici possono permettere il rilevamento dei più piccoli cambiamenti nei pattern di comportamento prima che appaiano segni clinici. L'identificazione precoce delle patologie può avere benefici sull'animale prevenendo la progressione della patologia e consentendo un pronto intervento aumentando, così, la risposta dell'organismo allo stesso.

Dall'introduzione di queste tecnologie, una problematica che sempre più sta diventando attuale è la presenza di programmi separati della gestione della mandria, nella sua interezza o di solo un aspetto (produzione, ruminazione, pH); la mancanza di comunicazione tra questi sistemi obbliga l'allevatore ad acquisire

competenze nella valutazione e interpretazione dei dati e nell'integrazione dei report o, in alternativa, a ricorrere alle prestazioni di un esperto.

La chiave per una futura gestione oculata della mandria passa dunque attraverso la raccolta dei dati e la conseguente creazione di report e liste di allerta, che identificano i soggetti a potenziale rischio di una patologia. Con questo eccesso di dati, provenienti dai sistemi automatici di monitoraggio della mandria, può capitare che l'allevatore sia sopraffatto da allerte eccessive (falsi positivi), oppure che i sistemi non siano sufficientemente sensibili a rilevare le variazioni di comportamento dovute ad una patologia (falsi negativi). Molto spesso questa mancanza di competenze sufficienti in azienda fa sì che tali strumenti di innovazione risultino non efficaci all'occhio dell'allevatore, il quale sempre più deve ricoprire la figura del manager aziendale. Quindi questo flusso di dati deve essere trasformato in uno strumento utile e affidabile per le aziende, grazie all'esperienza pratico operativa di campo e alle raccomandazioni del mondo scientifico (King e DeVries, 2018).

La sfida della moderna zootecnia si deve basare dunque sul controllo della mandria e sul corretto utilizzo degli strumenti tecnologici che il mercato sta rendendo sempre più accessibili anche alle aziende di medie dimensioni.

1.3.1 IL pH RETICOLO-RUMINALE

L'acidosi ruminale subacuta (SARA) è uno dei disordini dovuto all'alterazione delle fermentazioni ruminali, caratterizzato da estesi periodi di depressione del pH ruminale (Plaizier *et al.*, 2008). Questa sindrome è un problema diffuso in molte vacche ad alta produzione che ricevono una dieta molto fermentescibile (Duffield *et al.*, 2004; Plaizier *et al.*, 2008). I sintomi di SARA sono difficili da rilevare (Enemark, 2008), perché i segni clinici e le modificazioni del contenuto di grasso nel latte, che di routine è utilizzato per la diagnosi, non sono degli indicatori accurati nelle prime fasi di lattazione (Zebeli *et al.*, 2008). Ciò nonostante, la diagnosi precoce di SARA è molto importante per impostare una terapia, praticare i dovuti aggiustamenti alimentari (Enemark, 2008) e prevenire le complicazioni. SARA è caratterizzata da episodi ripetuti di depressione del pH ruminale al di sotto di 5.6 (Plaizier *et al.*, 2008) o 5.8 (Zebeli *et al.*, 2008), per un periodo di almeno 330 min/giorno (Zebeli *et al.*, 2008); la durata delle condizioni di pH al di sotto dei valori soglia determina la severità di SARA (Penner *et al.*, 2007).

Recentemente, sono entrati in commercio numerosi sistemi per il monitoraggio continuo delle funzioni ruminali, in particolare del pH reticolare, da usare su animali non fistulati. Sono generalmente boli dotati di tecnologia wireless che vengono inseriti a livello rumino-reticolare utilizzando una pistola sparaboli. La diagnosi di SARA e la valutazione della sua severità può, quindi, essere fatta mediante questi sistemi di monitoraggio continuo del pH ruminale, che hanno dimostrato elevata accuratezza rispetto a misurazioni singole del pH ruminale (Penner *et al.*, 2007; Klevenhusen *et al.*, 2014). Questi dispositivi wireless si

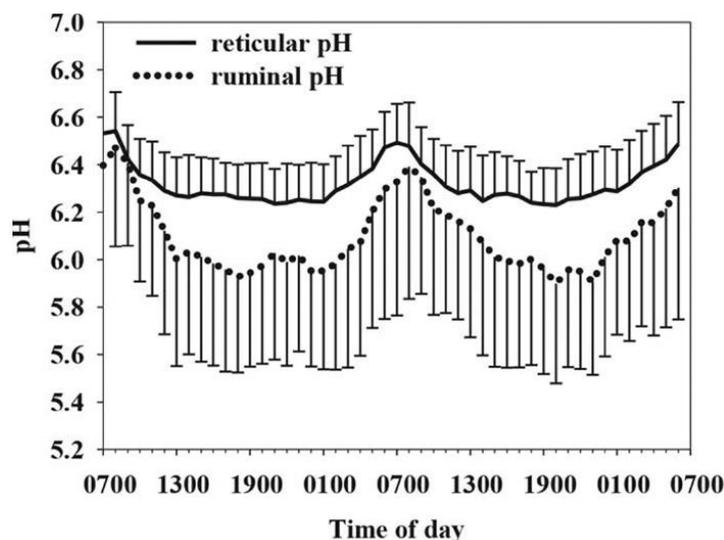
posizionano ventralmente nel rumine-reticolo (Gasteiner *et al.*, 2009) e il loro utilizzo permette di osservare piccole differenze tra il pH misurato nel sacco ventrale del rumine e quello del reticolo (Klevenhusen *et al.*, 2014). Il monitoraggio del pH ruminale è dunque suggerito come potenziale strumento per la diagnosi di SARA, in quanto è un parametro direttamente correlato con le variazioni nelle fermentazioni ruminali (Kleen *et al.*, 2003). In un'ottica di monitoraggio della mandria, metodi come il sondaggio ruminale e la ruminocentesi sono utilizzati per ottenere dei valori spot di pH ruminale ottenuti dal liquor ruminale così prelevato. Tuttavia, questi metodi hanno delle limitazioni, come per esempio delle variazioni di pH in relazione con la localizzazione intraruminale della sonda (Enemark, 2008), la contaminazione salivare dovuta all'introduzione della sonda e alla sua conseguente stimolazione a produrre saliva, problemi sulla salute dell'animale, possibili danni dati dalle pratiche invasive sopra descritte (Sato *et al.*, 2012a) e mancata possibilità di un monitoraggio continuo delle fluttuazioni di pH nel tempo.

In un recente studio effettuato da Falk *et al.*, 2016, sono stati comparati due sistemi di misurazione del pH ruminale in vacche fistulate. Sono stati utilizzati due tipologie di boli, una wireless, che si è andata a localizzare a livello reticolare (eBolus, eCow Ltd., Exeter, Devon, UK) e una intraruminale, fissata alla fistula (Lethbridge Research Center ruminal pH measurement system, LRCpH, Dascor Inc., Escondido, CA). I risultati ottenuti da Falk *et al.*, 2016, hanno mostrato come il valore di pH registrato a livello reticolare sia più elevato ($P < 0.01$, con valore giornaliero medio di 6.35) rispetto a quello registrato a livello ruminale (pH 6.11). La differenza media quindi riscontrata è stata di 0.24 ± 0.08 unità di pH. Si ipotizza che un pH più elevato a livello reticolare possa essere causato dalla diluizione del contenuto reticolare con alimento fresco e non fermentato, con saliva (Duffield *et al.*, 2004; Sato *et al.*, 2012b) o entrambi. Nelle 6 vacche utilizzate da Falk *et al.*, 2016, durante la sperimentazione si è verificata una minore fluttuazione del pH a livello reticolare rispetto a quello ruminale. I risultati ottenuti rispetto la Deviazione Standard di pH, misurata nelle 48 ore, a livello reticolare e ruminale sono stati 0.19 e 0.51 unità di pH, rispettivamente. Secondo Falk *et al.*, 2016, questo fatto era dovuto ad una maggiore stabilità di pH a livello reticolare a causa del minore volume reticolare, ad un contenuto più omogeneo in comparazione al contenuto ruminale, inoltre ad una minore possibilità di migrazione dei boli wireless, la quale avrebbe comportato una maggiore variabilità di misurazione. A conferma, nello studio di Duffield *et al.* (2004), il lettore di pH fissato alla fistula sembra essersi spostato all'interno del rumine, registrando maggiori variazioni di pH; è quindi in questo caso fondamentale un corretto fissaggio e ancoraggio dello strumento ruminale per limitare gli effetti di migrazione. In precedenza, Enemark *et al.* (2003) avevano deciso di utilizzare boli per la rilevazione del pH reticolare per misurare le variazioni di pH conseguenti alla somministrazione di diete con differenti rapporti in foraggi:concentrati e a variazioni nella distribuzione giornaliera dei concentrati, senza rilevare, tuttavia, effetti del trattamento sul pH reticolare. Quindi le basse fluttuazioni del pH reticolare, in comparazione alle ben più elevate registrate a livello ruminale, possono indicare anche una minore sensibilità a individuare variazioni nella dieta (Falk *et al.*, 2016).

In passato la diagnosi di SARA veniva eseguita basandosi su specifici valori soglia del pH ruminale, 5.5 come definito da Duffield *et al.* (2004). In questo modo, però, le ben note differenze esistenti tra pH ruminale e reticolare, limiterebbero la possibilità di diagnosi di SARA mediante rilevazione del pH reticolare.

Per questi motivi, Sato *et al.* (2012b) hanno suggerito di innalzare il valore soglia di diagnosi di SARA per le rilevazioni a livello reticolare. Nel loro studio sono emerse differenze di pH tra reticolo e rumine fino a 0.7 unità di pH per vacche in acidosi, differenze molto maggiori rispetto a quelle riscontrate da Falk *et al.* (2016) (0.24 ± 0.08 unità di pH). Nello studio di Falk *et al.* (2016) è stato ipotizzato che le differenze nella rilevazione del pH reticolare e ruminale possano essere state dovute alla composizione della dieta, all'ingestione o entrambe. Queste differenze, che non si sono rivelate costanti nel tempo, hanno impedito la messa a punto di un fattore di conversione fisso nella misurazione del pH reticolare e ruminale (Figura 2).

Figura 2. Media dei profili di pH (6 vacche) misurati simultaneamente nel reticolo (eBolus, eCow Ltd., Exeter, Devon, UK) e nel rumine (LRCpH, Dascor Inc., Escondido, CA). Le barre rappresentano la Deviazione Standard della media aritmetica (modificato da Falk *et al.*, 2016).



Lo studio effettuato da Humer *et al.*, (2015b) si è focalizzato sui cambiamenti di pH (Figura 3, 4) registrati a livello reticolo-ruminale in bovine da latte Simmental e Brown Swiss a fine gravidanza in concomitanza del cambio di dieta che avviene tra una dieta ricca in foraggi in asciutta ad una ricca in concentrati somministrata in lattazione. Nello studio è stato utilizzato un dispositivo di monitoraggio wireless (SmaXtec Animal Care Sales GmbH, Graz, Austria), validato in vacche fistolate da Klevenhusen *et al.* (2014). Secondo i dati riportati nello studio di Humer *et al.*, (2015b) non ci sono state differenze tra le razze e il pH ha mostrato una tendenza comune nel decrescere nei giorni successivi al parto, a causa del cambio di dieta; al contrario sono emerse differenze tra il gruppo definito SARA suscettibile (almeno un giorno prima del parto in cui il pH reticolare si sia mantenuto per 330 min sotto la soglia di 5.8, Zebeli *et al.*, 2008) e il gruppo tollerante. Questo fatto indica che vi sono forti differenze individuali indipendenti dalla razza.

Figura 3. pH reticolare medio giornaliero precedente e successivo il parto in 9 Simmental e 4 Brown Swiss; grafico a: le stesse vacche suddivise in SARA suscettibili (8) e SARA tolleranti (5); grafico b: * indica differenze tra i gruppi di $P \leq 0.05$ (modificato da Humer *et al.*, 2015b).

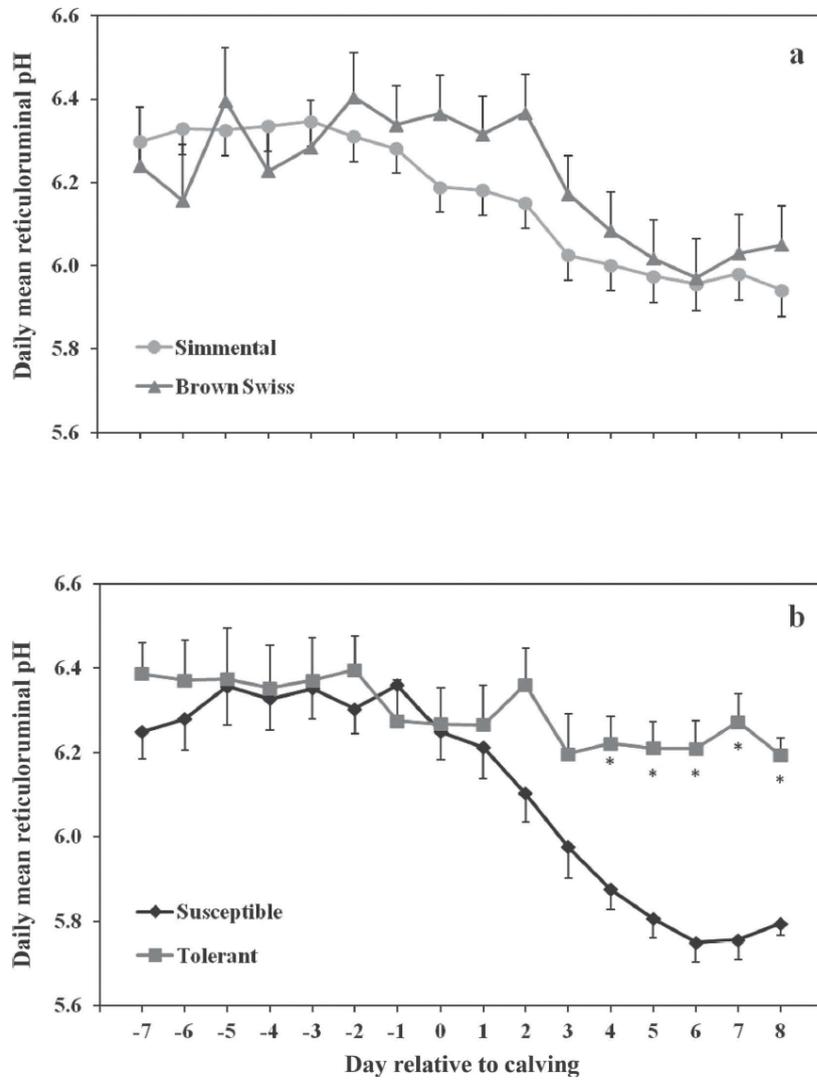
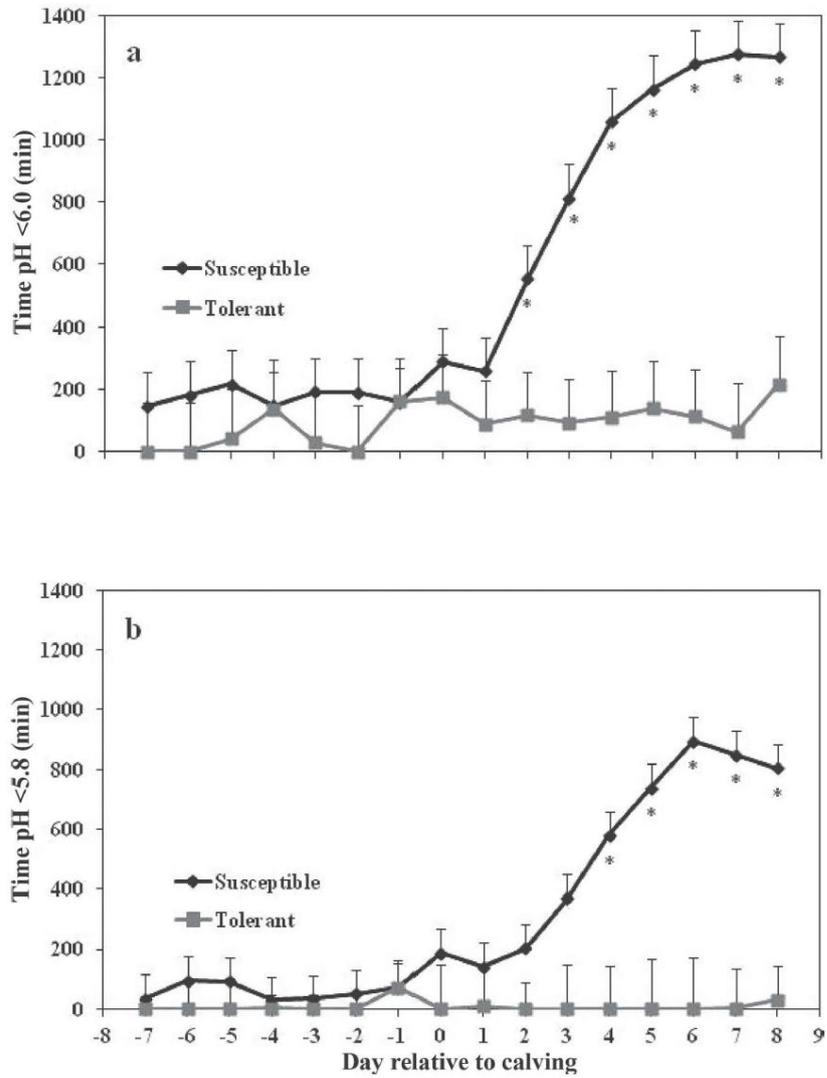


Figura 4. Tempo di permanenza del pH reticolare < 6.0; grafico a: e < 5.8; grafico b: precedente e successivo il parto, in vacche suscettibili a SARA e tolleranti a SARA. * indica differenze tra i gruppi di $P \leq 0.05$ (modificato da Humer *et al.*, 2015b).



Nello studio sopracitato si sono registrati abbassamenti del pH reticolare a partire dal terzo giorno dopo il parto, ad indicare un aumento del rischio di SARA nei giorni successivi al parto. Una depressione del pH reticolo-ruminale in vacche SARA suscettibili nel post-parto potrebbe indicare una maggiore fermentescibilità ruminale rispetto ad animali SARA tolleranti (Aschenbach *et al.*, 2011), dovuto ad una maggiore rapidità nel tasso di produzione di AGV nel liquor. Va ricordato, però, che la produzione di AGV è tipicamente promossa da un'elevata ingestione di sostanza secca (SSI) e specialmente di un'elevata assunzione di carboidrati facilmente degradabili, come amidi e zuccheri (Zebeli *et al.*, 2008). Considerato che nello studio condotto da Humer *et al.* (2015b) le diete erano le stesse nel gruppo SARA suscettibili e SARA tolleranti, è ragionevole pensare che la produzione di AGV potesse esser stata differente tra i gruppi in ragione della SSI, della variabilità individuale del microbiota ruminale e della capacità assorbente della parete ruminale.

Differenti suscettibilità a SARA possono suggerire una diversa capacità di tamponare gli AGV prodotti (Aschenbach *et al.*, 2011), come risultato di differenti meccanismi di regolazione del pH intraruminale tra animali suscettibili o meno a SARA (Humer *et al.*, 2015b). La capacità tampone ruminale è principalmente influenzata dalla composizione dell'alimento, dalle secrezioni salivari e dalla capacità di assorbimento della parete ruminale (Allen, 1997).

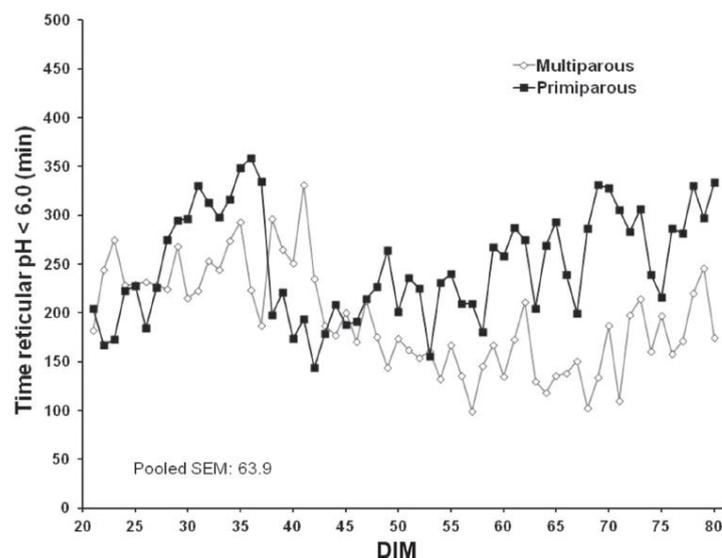
In uno studio condotto da Gao e Oba (2014), è stato ribadito che una maggiore attività di masticazione e quindi ruminazione non sono necessariamente correlate con un pH ruminale più elevato. Riprova che grande variabilità individuale è presente nei comportamenti di assunzione dell'alimento e nei tempi di ruminazione (Christensen e Fehr, 2000), quindi più fattori entrano in gioco nel determinare la variabilità riportata da più autori. È stato infatti dimostrato che vacche in lattazione tolleranti ad una dieta ricca in concentrati selezionano meno l'unifeed alla ricerca del particolato più fine rispetto al gruppo di animali suscettibili (Gao e Oba, 2014).

In generale, la suscettibilità a SARA può essere anche influenzata dal numero di lattazioni. Vacche primipare sembrano avere un maggiore rischio rispetto a vacche pluripare (Krause e Oetzel, 2006; Bramley *et al.*, 2008); da qui la necessità di prendere specifici accorgimenti e strategie in base al numero di lattazioni.

Come raffigurato in Figura 5, in Humer *et al.* (2015a) è stato osservato che in vacche pluripare il pH è sceso sotto valori di 6.0 per periodi più brevi, rispetto a vacche primipare alimentate con la stessa dieta di lattazione tra i 20 e 80 giorni post-partum. Questo può essere dovuto a diverse ragioni. Primariamente vacche pluripare hanno già avuto esperienza di diete ad elevato contenuto di cereali, mentre le primipare entrano per la prima volta in contatto con diete ad elevata densità energetica dalla transizione ad un rumine maturo dopo lo svezzamento. È noto infatti che le manze hanno meno papille ruminali e un microbiota ruminale meno adattato (Penner *et al.*, 2007; Bramley *et al.*, 2008). In secondo luogo, esistono differenti comportamenti di ruminazione tra i parti, con le manze caratterizzate da minor ruminazione, da cui deriva una minore produzione di saliva con tutte le conseguenze già descritte (Maekawa *et al.*, 2002; Bowman *et al.*, 2003). Terzo, le manze alla prima lattazione possono differire nel comportamento di assunzione dell'alimento, specialmente quando una vacca adulta e con più lattazioni è presente nello stesso gruppo di lattazione, con il risultato di un minore accesso alla mangiatoia, che porta a consumare meno pasti di maggiore entità (Krause e Oetzel, 2006). Infatti, la

diminuzione nella frequenza di alimentazione è stata relazionata con la severità di SARA (Macmillan *et al.*, 2017). Inoltre, differenze nel peso corporeo, e di conseguenza nel volume ruminale, possono giocare un ruolo sulla suscettibilità a SARA. Uno studio recente condotto da Nasrollahi *et al.* (2017) ha notato che vacche suscettibili a SARA avevano in media 50 kg in meno di peso corporeo rispetto al gruppo di vacche SARA tolleranti. Infine, nel gruppo delle manze sono inclusi anche quegli animali che non sono in grado di autoregolare il loro pH ruminale (Oetzel, 2007). Per controparte alcuni studi non hanno osservato differenze tra animali con diverso numero di lattazioni (Gröhn e Bruss, 1990) o, addirittura, anche con risultati opposti (Maekawa *et al.*, 2002). A dispetto di questi dati vi è la necessità di avere una maggior cura nell'alimentazione e gestione delle primipare, specialmente nella prima e seconda fase di lattazione.

Figura 5. Tempo di permanenza del pH reticolare sotto 6.0 in vacche da lattazione multipare e primipare (modificato da Humer *et al.*, 2015a).



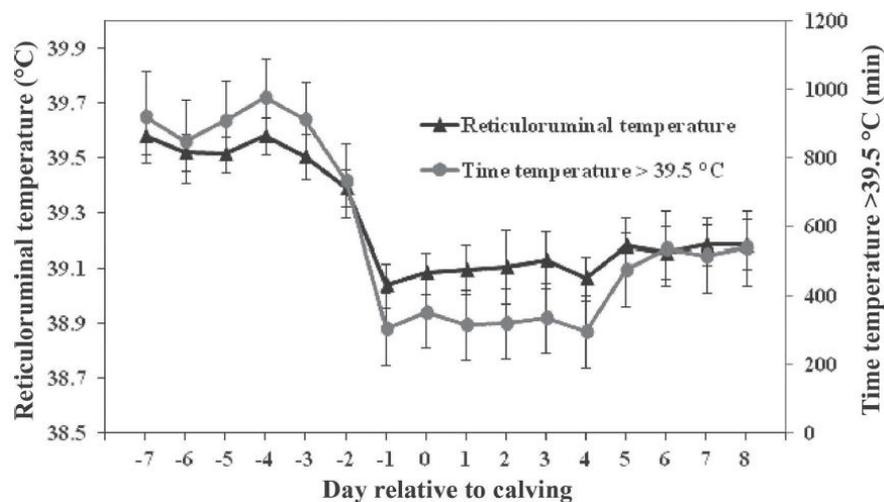
1.3.2 LA TEMPERATURA RETICOLO-RUMINALE

Oltre al pH, anche la temperatura può indicare una condizione di SARA in atto. Infatti, i sistemi di monitoraggio continuo del pH registrano simultaneamente anche la temperatura utilizzando il medesimo sensore. Secondo AlZahal *et al.* (2008) la temperatura ruminale è negativamente correlata con il pH ruminale in condizioni di SARA. Questi autori hanno riscontrato che una temperatura ruminale compresa tra 39 e 41 °C è critica in situazioni di diagnosi di SARA, perché è correlata negativamente al pH ruminale. Diversamente, nello studio di Humer *et al.* (2015b) è stata rilevata una correlazione positiva, seppur minima, tra temperatura e pH reticolare ($r = 0.24$) e una bassa correlazione negativa tra il tempo di temperatura reticolare > 39.5 °C e il pH < 5.8 ($r = -0.24$). Secondo questi risultati, quindi, la temperatura reticolare non sembra essere uno strumento efficace per diagnosticare condizioni di SARA in allevamento.

D'altra parte, poiché la temperatura reticolare e ruminale sono correlate con la temperatura corporea (Bewley *et al.*, 2008), risultando di circa 0.5 °C maggiori rispetto quella corporea (Hicks *et al.*, 2001; Prendiville *et al.*, 2002), costituiscono uno strumento di monitoraggio efficace delle funzioni dell'organismo, come il parto (Cooper-Prado *et al.*, 2011). La temperatura del rumine-reticolo potrebbe dunque cambiare anche nel periodo, nelle ore che precedono il parto, come avviene con la temperatura corporea, diventando un indicatore del momento del parto.

Lo studio effettuato da Humer *et al.* (2015b) si è focalizzato oltre che sui cambiamenti del pH reticolo-ruminale, già descritti in precedenza, anche sulla temperatura (Figura 6) registrata a livello reticolo-ruminale in bovine da latte Simmental e Brown Swiss. Nello studio è stato utilizzato un dispositivo di monitoraggio wireless (SmaXtec Animal Care Sales GmbH, Graz, Austria), validato in vacche fistulate da Klevenhusen *et al.* (2014). In cui si è registrato il decremento della temperatura reticolare registrata nel periparto, certificando come questa tecnologia wireless possa essere utilizzata al fine di individuare specifiche fasi e stati patologici nella bovina da latte.

Figura 6. Temperatura reticolare e tempo di permanenza della temperatura > 39.5 °C nella fase di transizione dall'asciutta al parto. (modificato da Humer *et al.*, 2015b)



Per concludere, il monitoraggio della temperatura ruminale a ridosso del parto potrebbe aiutare a predire eventi fisiologici in condizione di campo, mentre il monitoraggio simultaneo del pH ruminale aiuterebbe nella diagnosi precoce di SARA.

1.3.3 IL TEMPO DI RUMINAZIONE

Come precedentemente descritto, negli ultimi anni molti dispositivi sono stati sviluppati e implementati dall'industria del lattiero casearia per il monitoraggio automatico dei comportamenti e parametri fisiologici (Rutten *et al.*, 2013; Ferrero *et al.*, 2014; Barkema *et al.*, 2015).

La ruminazione è quel meccanismo ciclico che consente di rimescolare nel rumine l'alimento, di favorire l'evacuazione dal rumine del liquor ruminale e delle particelle che hanno già subito il processo digestivo, di eruttare i gas e di riportare in bocca il bolo alimentare per la masticazione mericica.

Il processo di masticazione, sia durante l'alimentazione che la ruminazione, gioca un ruolo vitale nel mantenere alti livelli di ingestione ed elevata efficienza digestiva nelle vacche ad elevate produzioni. È risaputo che i ruminanti masticano rapidamente l'alimento nell'atto dell'assunzione per poi deglutirlo, il successivo processo di risalita del bolo mericico e di rimasticazione prende il nome di ruminazione. Mano a mano che l'alimento è ruminato, il particolato si riduce e viene imbibito di saliva, che lo lubrifica e permette la successiva seconda deglutizione. La rottura fisica dell'alimento durante la masticazione facilita la colonizzazione microbica e l'escape del particolato più fine dal rumine-reticolo verso i successivi tratti del digerente.

Un ottimale tempo di ruminazione è necessario per minimizzare i rischi di acidosi ruminale, permettere la digestione della fibra e promuovere un alto livello di ingestione nelle vacche da latte (Church, 1975; Welch, 1982; Ruckebusch, 1988; De Boever *et al.*, 1990; Beauchemin, 1991).

La ruminazione è stimolata dall'attivazione dei tensio-recettori della superficie reticolo-ruminale (Ash e Kay, 1959; Leek, 1986). Questi tensio-recettori sono eccitati da una stimolazione tattile e da una bassa a moderata distensione del rumine a causa del suo contenuto. Tuttavia, un'estrema distensione del rumine (meteorismo) e vari stimoli chimici inibiscono di fatto tali contrazioni (Ash e Kay, 1959). Per esempio, elevate concentrazioni di AGV ed una elevata pressione osmotica, tipicamente osservata negli stadi precoci di acidosi ruminale possono causare stasi ruminale (Leek, 1986), che generalmente inizia come ipomotilità fino ad un vero e proprio blocco ruminale.

Il tempo massimo che fisiologicamente le bovine possono ruminare è di circa 10-12 ore al giorno, che si ottiene solo alimentando le bovine con elevate quantità di foraggi (Welch, 1982; De Boever *et al.*, 1990); infatti, la maggior parte delle vacche da latte alimentate ad unifeed non ruminano così a lungo (Watt *et al.*, 2015). Nelle usuali condizioni di allevamento a stabulazione libera, il tempo speso per la ruminazione deve essere superiore ai 360/380 minuti al giorno. Valori minimi per garantire la funzionalità ruminale sono indicati da Zebeli (Zebeli *et al.*, 2007; Zebeli *et al.*, 2009) in 390 minuti/giorno, ma il tempo ottimale dovrebbe essere superiore a valori di 400/420 minuti al giorno (Calamari *et al.*, 2014). Nel sintetizzare la letteratura sul tema, White *et al.* (2017) riporta che la ruminazione media è di 436 min/gg (n = 179), con un range da 236 a 610 min/gg, mentre Zebeli *et al.* (2006) riferisce una ruminazione media di 434 min/gg (n = 99), con un range da 151 a 630 min/gg (Tabella 5). La grande variabilità in ruminazione tra le bovine che sono entrate a far parte di questi studi è

spiegata da diverse ragioni, incluse le tecniche di misurazione, la variabilità individuale (De Boever *et al.*, 1990) ed infine la composizione fisica e chimica delle diete.

Tabella 5. Sintesi dei dati medi di SSI, attività masticatoria e pH da White *et al.* (2017) e Zebeli *et al.* (2006).

Item	No.	Mean	SD	Minimum	Maximum
<i>White et al. (2017)</i>					
Ruminazione	179	436	68.4	236	610
<i>Zebeli et al. (2006)</i>					
Ruminazione	99	434	82.5	151	632

La ruminazione avviene di preferenza durante la notte quando le vacche da latte riposano, ma i bovini ruminano anche durante il giorno quando non vengono disturbati dalle pratiche aziendali, come la mungitura o la distribuzione del nuovo alimento (Grant *et al.*, 1990; Dado e Allen, 1994; Paudyal *et al.*, 2016). Schirmann *et al.* (2012) riporta che il picco di ruminazione avviene approssimativamente 4 ore dopo la distribuzione dell'alimento e il tempo di ruminazione è associato ai periodi di decubito. Tuttavia, mano a mano che i minuti totali di ruminazione aumentano, proporzionalmente diminuisce la quota di ruminazione che avviene di notte e quando le bovine sono coricate (Stone *et al.*, 2017).

Alcuni studi riportano un maggiore tempo di ruminazione in pluripare in comparazione con primipare, però queste differenze appaiono maggiormente correlate con la differenza in SSI, quindi correggendo il tempo di ruminazione con l'intake le differenze tra primipare e multipare sono inferiori o assenti (Beauchemin e Rode, 1994, Dado e Allen, 1994; Beauchemin e Rode, 1997; Maekawa *et al.*, 2002b; Kowsar *et al.*, 2008).

Il tempo di ruminazione è positivamente associato con la produzione di latte. Stone *et al.* (2017) riporta una debole relazione tra il tempo di ruminazione e la produzione di latte ($n = 36$, $r = 0.22$, $P < 0.01$), mentre Kaufman *et al.* (2018) riporta che vi è una moderata correlazione nelle vacche fresche, quindi nel primo stadio di lattazione ($r = 0.37 - 0.69$ in dipendenza del numero di lattazioni e della SSI). L'associazione positiva tra ruminazione e produzione di latte può essere dunque direttamente relazionata con la SSI.

Dalla letteratura emerge che vi è una relazione compensatoria tra masticazione dovuta all'assunzione di alimento e tempo di ruminazione. Dado e Allen (1994) riportano che in vacche con accesso *ad libitum* dell'unifeed il coefficiente di correlazione tra assunzione di alimento e ruminazione era di -0.62 ; ciò indica che le vacche che spendono meno tempo a mangiare ruminano più a lungo. Una relazione simile ed inversa è riportata per le vacche con un decremento del tempo di assunzione di alimento dovuto alla restrizione alimentare (assenza di alimento in mangiatoia) o alla composizione della dieta (elevato contenuto di foraggi a

lungo particolato) (Dulphy *et al.*, 1979; Campling e Morgan, 1981). Quindi il tempo totale di masticazione è meno variabile del tempo speso ad assumere alimento o a ruminare. Tuttavia, questo effetto compensatorio non avviene in vacche che ruminano a livelli vicini al loro massimo fisiologico, come nel caso delle vacche ad elevata produzione. Da qui la correlazione tra assunzione di alimento e ruminazione si è rivelata relativamente bassa quando esaminata confrontando differenti studi ($r = 0.27, P < 0.05$; White *et al.*, 2017). Il tempo massimo di masticazione per le vacche da latte è stimato di circa 16 ore al giorno (Zebeli *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2016; White *et al.*, 2017). A conferma, negli studi di Schirmann *et al.* (2012) e Clément *et al.* (2014) si riporta assenza di correlazione tra ruminazione e SSI, imputando le differenze tra le ruminazioni alle caratteristiche chimico fisiche della dieta.

Il livello di attività e il tempo di ruminazione sono due parametri disponibili per monitorare il benessere in stalla. In vacche con patologie cliniche o subcliniche ci si aspettano alterazioni della loro attività e nel pattern di ruminazione con sufficiente ampiezza per essere rilevate da specifici algoritmi o mediante visualizzazione dei dati e o grafici. Molti studi hanno riscontrato che il tempo di ruminazione è associato con stati di malessere clinico o subclinico (Soriani *et al.*, 2012; Gáspárdy *et al.*, 2014; Liboreiro *et al.*, 2015; Stangaferro *et al.*, 2016a). In questi studi sono documentati i cambiamenti e i trend dei pattern di ruminazione e attività riferiti a molti disordini; Stangaferro *et al.* (2016a) ha inoltre valutato le performance dei sistemi automatici di monitoraggio della salute che utilizzano la ruminazione e l'attività nel rilevare gli animali con diverse patologie, in particolare metaboliche e digestive, soprattutto sulla tempestività di questi nel rilevare la patologia in comparazione con la diagnosi clinica.

Nello studio svolto da Stangaferro *et al.* (2016a) sono state utilizzate 1.121 vacche frisone (451 nullipare e 670 multipare) e, grazie all'utilizzo del collare HR Tags (SCR Dairy, Netanya, Israel), è stata rilevata la ruminazione e l'attività degli animali da -21 giorni dal parto a 80 giorni in mungitura. Gli obiettivi dello studio erano quelli di valutare, in primis, le performance del sistema di monitoraggio dello stato di salute nell'identificare disordini metabolici e digestivi, come torsione dell'abomaso, chetosi e indigestione, grazie al sistema di allerta dei collari (health index score, HIS). Questo dispositivo combina tempo di ruminazione e attività, calcolando i giorni che intercorrono tra la prima allerta HIS e la diagnosi clinica della patologia da parte del personale aziendale, infine il tempo di ruminazione giornaliero, l'attività e l'output in HIS attorno al giorno della diagnosi clinica. Questo sistema di monitoraggio, in uso anche nella stalla sperimentale dell'Università di Bologna, fornisce dati grezzi ogni due ore, dalla somma dei quali scaturisce un ammontare giornaliero di ruminazione e attività. La scala HIS va da 0 a 100 unità, è calcolata giornalmente e individualmente da un algoritmo che combina ruminazione e attività. Nello studio è stato definito come output positivo in HIS un valore < 86 per almeno una giornata da -5 giorni a +2 giorni rispetto la diagnosi clinica. La sensibilità della scala HIS riscontrata nello studio è stata del 98% (95% dell'intervallo di confidenza, CI: 93, 100) per torsione dell'abomaso (41 casi); 91% (95% CI: 83, 99) per chetosi (54 casi); 89% (95% CI: 68, 100) per indigestione (9 casi) e 93% (95% CI: 89, 98) per combinazioni di più patologie (104 casi). I giorni tra la prima allerta positiva $HIS < 86$ e la diagnosi clinica sono stati rispettivamente -3 (95% CI: 3.7, -2.3), -1.6 (95%

CI: 2.3, -1.0), -0.5 (95% CI: 1.5, 0.5) e -2.1 (95% CI: 2.5, -1.6) per torsione dell'abomaso, chetosi, indigestione e la sommatoria di ogni evento patologico. Il pattern di ruminazione e attività, con il calcolo del HIS giornaliero, riscontrato nello studio per gli animali rilevati come positivi a problemi sanitari dal dispositivo di monitoraggio, era caratterizzato da livelli inferiori in comparazione a vacche senza problemi di salute ma segnalate e vacche non segnalate nell'arco temporale di -5 giorni e +5 giorni dalla diagnosi clinica, in dipendenza della patologia (Figura 7, 8). Nello studio, la sensibilità generale e il tempo di rilevazione da parte del dispositivo al momento dell'allerta ha indicato che la combinazione di ruminazione e attività possono essere strumenti utili per identificare i soggetti che, nella mandria, soffrono di questi problemi (Stangaferro *et al.*, 2016a). Nel medesimo studio sono stati rilevati anche i dati riguardanti i casi di mastite e metrite (Stangaferro *et al.*, 2016b, c) e i risultati sono stati sovrapponibili a quelli sopra riportati.

Figura 7. Ruminazione giornaliera (A, D), attività giornaliera (B, E) e indice di benessere HIS (C, F), tempo relativo da -5 a +5 giorni dalla diagnosi clinica per vacche con torsione dell'abomaso (A, B, C) e chetosi (D, E, F). I casi positivi di patologia sono separati in HI+ (indice HIS positivo < 86) o HI- (indice HIS negativo \geq 86). Significatività ($P \leq 0.05$) tra i giorni sono rappresentate come *control vs HI+; ‡HI+ vs HI-. (Modificato da Stangaferro *et al.*, 2016a).

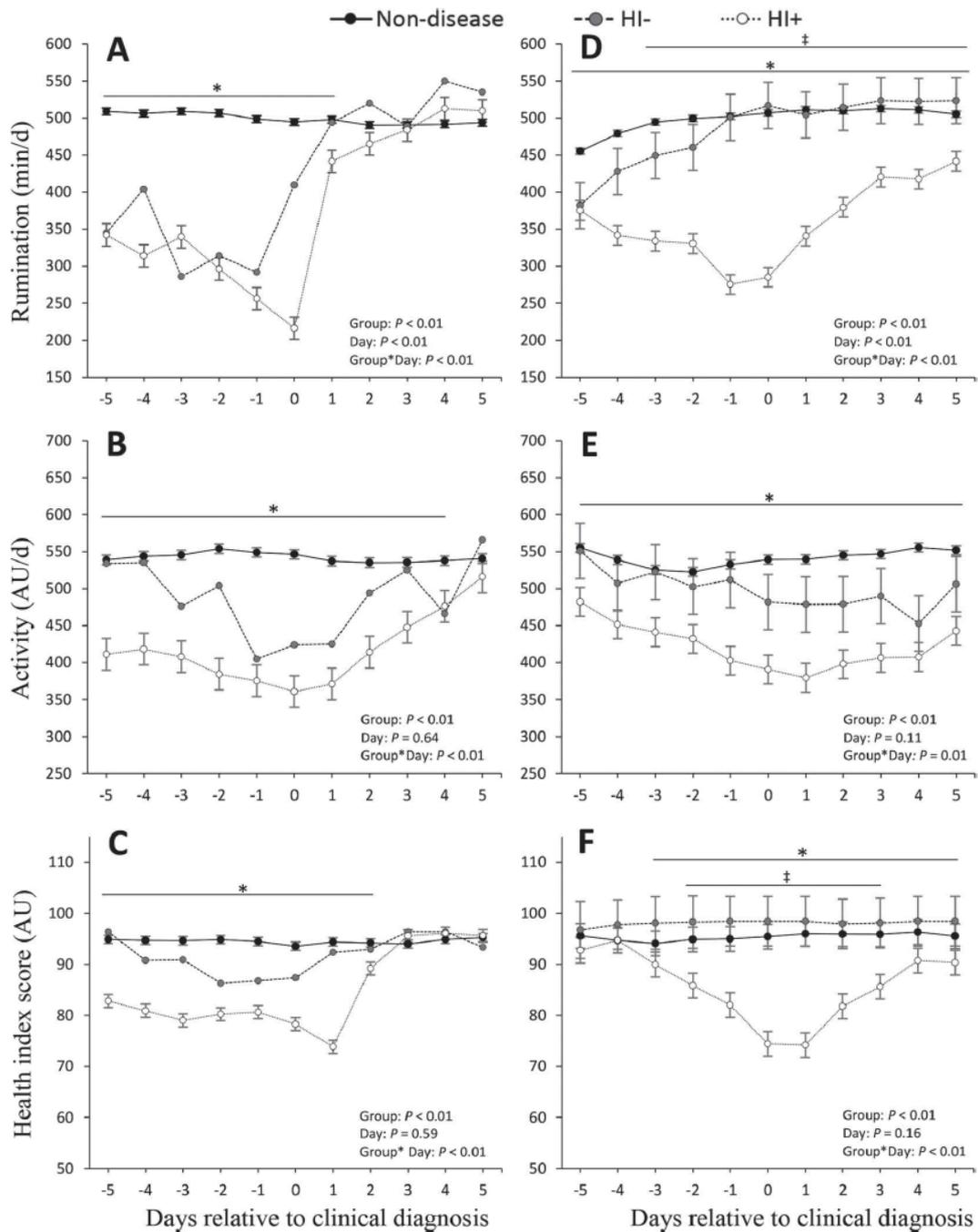
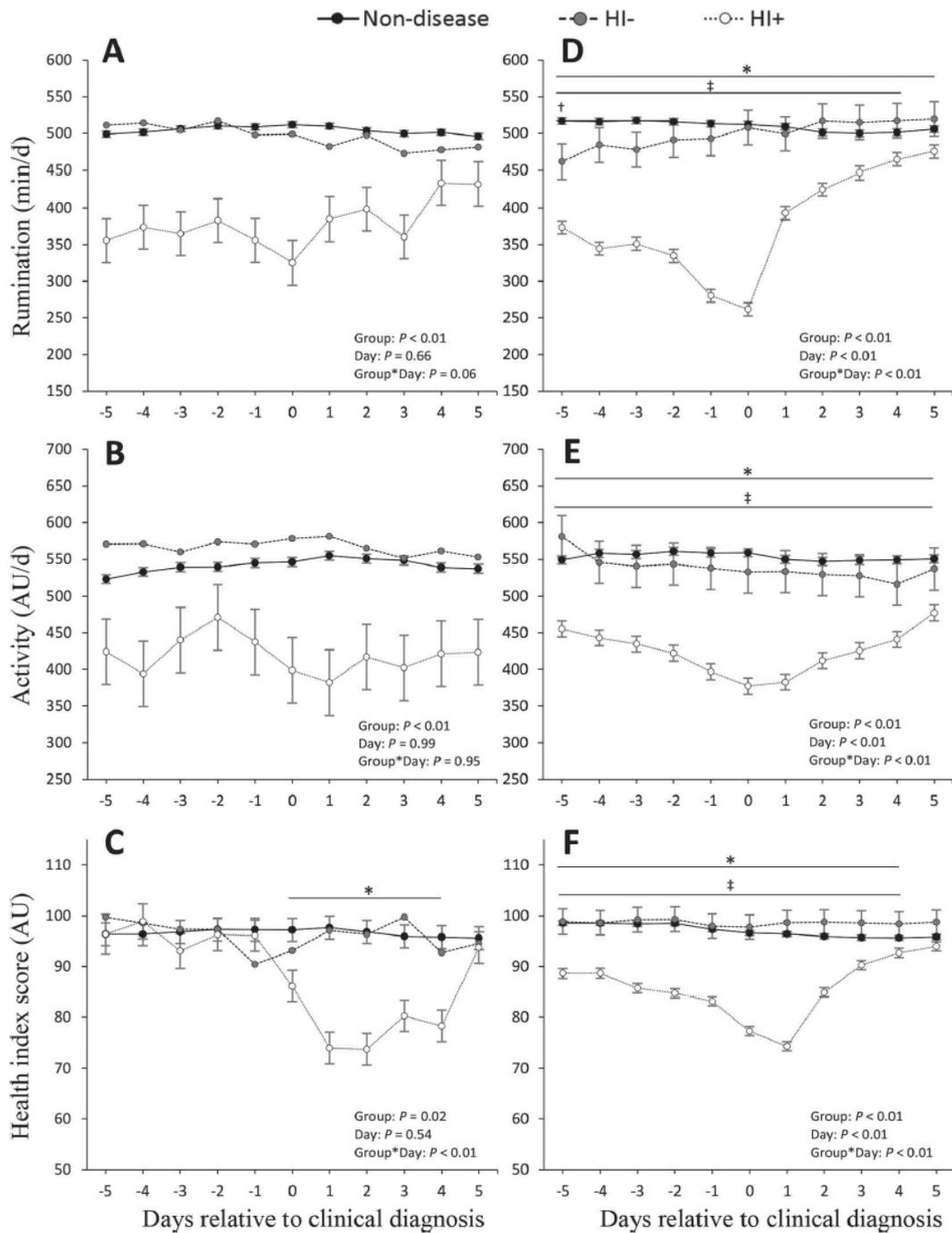


Figura 8. Ruminazione giornaliera (A, D), attività giornaliera (B, E) e indice di benessere HIS (C, F), tempo relativo da -5 a +5 giorni dalla diagnosi clinica per vacche con indigestione (A, B, C) e tutti i casi riscontrati nello studio (D, E, F). I casi positivi di patologia sono separati in HI+ (indice HIS positivo < 86) o HI- (indice HIS negativo ≥ 86). Significatività ($P \leq 0.05$) tra i giorni sono rappresentate come *control vs HI+; †control vs HI-; ‡HI+ vs HI- (modificato da Stangaferro *et al.*, 2016a).



2. PARTE SPERIMENTALE

2.1 SCOPO DELLA TESI

Lo scopo della tesi è stato quello di studiare la funzionalità ruminale, intesa come variazione del tempo di ruminazione, pH reticolo-ruminale e produzioni in acidi grassi volatili, le variazioni del comportamento alimentare e i suoi riflessi produttivi in bovine di razza Frisona Italiana sottoposte a differenti sistemi di gestione della somministrazione dell'alimento e differenti rapporti foraggi:concentrati.

Per fare ciò sono state eseguite due prove sperimentali:

La prima si è posta l'obiettivo di studiare il comportamento alimentare di bovine soggette ad una disponibilità dell'alimento *ad libitum* o razione e con la presenza o assenza di fieno lungo a disposizione.

La seconda ha studiato l'effetto di un cambio drastico di stabulazione e dieta, con il passaggio da una situazione di stabulazione libera con una dieta standard ad una fissa e con una dieta ricca in concentrati.

Tutte le prove sperimentali e le attività che hanno previsto l'utilizzo di animali sono state previamente approvate dal CoBA, quale Organismo preposto al Benessere degli Animali (OpBA) e quale Comitato Etico per la sperimentazione animale (CE) dell'Università di Bologna.

2.2 PROVA 1: EFFETTI DELLA SOMMINISTRAZIONE AD LIBITUM O RISTRETTA DI UNIFEED CON LA SUPPLEMENTAZIONE DI FIENO LUNGO SUI PARAMETRI PRODUTTIVI, RUMINALI E COMPORTAMENTALI

2.2.1 FINALITÀ

Le finalità di questo esperimento sono state quelle di valutare le risposte fisiologiche, comportamentali e produttive di vacche in lattazione alimentate con piatto unico “a secco” e finemente trinciato, somministrato a volontà (24 ore) o in quantità limitata (19 ore), lasciando o meno disponibile del fieno lungo.

La limitazione della somministrazione dell’unifeed è stata praticata riducendo il numero di ore in cui gli animali avevano l’unifeed in mangiatoia. La quantità di unifeed in questo tempo è sempre stata somministrata a volontà, ma i residui nel gruppo con unifeed “razionato” venivano tolti dalla greppia 5 ore in anticipo rispetto al gruppo di controllo. Si è operata quindi una limitazione temporale durante la giornata nella disponibilità dell’unifeed. Per tutto il corso della giornata a metà degli animali è stato messo a disposizione in una parte della mangiatoia del fieno lungo.

Inoltre, è stato studiato l’effetto del cambio di dieta nel passare da un regime *ad libitum* ad uno razionato e viceversa.

L’ipotesi è stata quella che un accesso limitato all’unifeed determini un incremento della velocità di ingestione nelle prime ore dalla distribuzione del nuovo alimento e porti a cambiamenti nel pH ruminale, mentre l’offerta di fieno lungo possa stabilizzare il pH ruminale prevenendo cambiamenti nelle produzioni.

Parte dei dati presentati in questa prima prova sperimentale sono attualmente pubblicati in Cavallini *et al.* 2018, mentre la rimanente parte, già presentata come poster alla conferenza ADSA 2018, è tuttora in fase di pubblicazione.

2.2.2 MATERIALI E METODI

DISEGNO SPERIMENTALE

La sperimentazione è stata effettuata nell'azienda sperimentale dell'Università di Bologna. La stalla sperimentale si trova ad Ozzano nell'Emilia (BO), ospita 85 capi in lattazione ed è dotata di tecnologie che hanno consentito di svolgere in modo adeguato la ricerca attraverso il completo controllo dei parametri fisiologici e produttivi delle bovine in prova.

La sala di mungitura presente in azienda è a spina di pesce (5+5) e dotata di sistemi di misurazione in linea delle quantità di latte prodotto e stima della sua composizione qualitativa (Afifarm®, Afilab® e AfiLite®, S.A.E. Afikim – Israel). Queste tecnologie permettono l'identificazione individuale con podometro e interfaccia di controllo, la rilevazione della produzione individuale, la rilevazione del flusso individuale e dispositivo di stacco automatico, la stima dell'analisi della composizione del latte individuale (Afilab) e back-flushing e la pesatura individuale in uscita dalla sala di mungitura. La mungitura viene eseguita due volte al giorno: al mattino alle ore 5:30 e alla sera alle ore 17:00. Ogni misurazione viene effettuata ad ogni mungitura, quindi due volte al giorno. La composizione del latte viene costantemente stimata attraverso la tecnologia MIR (spettroscopia del medio infrarosso) che permette di avere una stima in tempo reale durante la mungitura del contenuto di grasso, proteine, lattosio, cellule somatiche e conducibilità elettrica. Oltre alla strumentazione Afi Milk®, la stalla è dotata del sistema RuminAct® (Hr-Tag, SCR® Israel, Lindgren, 2009) per la misurazione del tempo di ruminazione e di sistemi di raffrescamento (ventilatori a pale orizzontali e doccette lungo la corsia di alimentazione) ad azionamento automatico al raggiungimento di valori di THI (temperature humidity index) superiori a 65. Inoltre, l'azienda è dotata di un carro trincia-miscelatore orizzontale modello King Feeder 13m3 ZAGO®.

La sperimentazione è stata condotta in un'area organizzata con otto poste fisse, ciascuna dotata di mangiatoie provviste di bilance per la pesatura dell'alimento (Dinamica generale, MN, Italia) e di contatori per la valutazione del consumo dell'acqua di abbeverata. La sperimentazione ha coinvolto otto animali qui stabulati ed ha avuto una durata di 84 giorni suddivisi in quattro periodi, ciascuno della durata di 21 giorni. Di questi, gli ultimi sette sono stati dedicati alla raccolta di dati e campioni mentre i quattordici precedenti sono stati effettuati allo scopo di adattare gli animali alla nuova dieta e studiare gli effetti del cambio di regime alimentare.

ANIMALI SELEZIONATI

Le vacche utilizzate erano pluripare di razza Frisona Italiana con caratteristiche medie di peso vivo 629 ± 49 kg, lattazioni 2.25 ± 0.46 , produzione 44.9 ± 2.5 kg/gg, e giorni in lattazione 99 ± 49 . Caratteristiche dettagliate sono riportate in Tabella 6.

Tabella 6. Caratteristiche vacche scelte per la sperimentazione.

	Età, anni	Parti, n°	Giorni in lattazione	Latte, kg	Peso vivo, kg	ECM, kg
Coppia 1						
Vacca 328	3.92	2	91	44.6	627	46.8
Vacca 293	4.81	3	138	44.4	685	42.4
Coppia 2						
Vacca 319	4.12	2	162	41	693	40.9
Vacca 345	3.25	2	160	44.6	610	42.7
Coppia 3						
Vacca 347	3.23	2	38	45.1	552	42.3
Vacca 349	3.21	2	45	48.9	595	46.9
Coppia 3						
Vacca 342	3.52	2	72	47.7	604	47.7
Vacca 322	4.08	3	88	42.8	669	43.7

DIETE SPERIMENTALI

Le razioni sono state formulate utilizzando il software Dinamilk® (v5), basato sul modello CNCPS (v6). In Tabella 7 è riportata la composizione della razione e del mangime utilizzato.

Tabella 7. Razione e composizione del mangime.

Composizione della razione		
Fieno di prato polifita di 1° taglio	kg	9
Mais laminato a caldo	kg	5
Melassi	kg	1.5
Mangime	kg	11

Composizione del mangime		
Crusca di grano tenero	%	29.70
Sorgo farina fine	%	29.50
Soia F.E. 44%	%	21.74
Soia integrale fioccata	%	14.80
Calcio carbonato	%	2.00
Sale	%	0.87
Magnesio ossido	%	0.35
Bentonite sodica	%	0.79
Integrazione (*)	%	0.25

(*) Gli apporti in oligoelementi e vitamine per kg di mangime erano:

Vitamine, provitamine e sostanze ad effetto analogo: vitamina A prot, E672 U.I. 40000; vitamina D3, E671 U.I. 4000; vitamina E α -tocoferolo 92% prot. Mg 30; vitamina B1 mg 5; vitamina B2 mg 3; vitamina B6 mg 1.5; vitamina B12 mg 0.06; vitamina K mg 5; vitamina H1 mg 5; vitamina PP mg 150; colina cloruro mg 50;

Composti di oligoelementi: ferro (carbonato ferroso) E1 mg 100; cobalto (carbonato basico di cobalto) E3 mg 1; iodio (iodato di calcio anidro) E2 mg 5; manganese (ossido manganoso) E5 mg 120; rame (solfato rameico pentaidrato) E4 mg 10; zinco (ossido di zinco) E6 mg 130.

I quattro trattamenti alimentari erano tutti basati sulla stessa miscela fornita in piatto unico trinciato fine e secco (piatto corto e secco) e erano i seguenti:

- 1 - Piatto corto e secco a volontà senza fieno lungo a disposizione 24hF-;
- 2 - Piatto corto e secco a volontà con fieno lungo a disposizione 24hF+;
- 3 - Piatto corto e secco ristretto senza fieno lungo a disposizione 19hF-;
- 4 - Piatto corto e secco ristretto con fieno lungo a disposizione 19hF+.

Nelle tesi 24h le quantità di alimento fornite erano tali da avere al momento della pulizia delle greppie prima della nuova distribuzione non meno del 7-8% di residui della razione fornita il giorno precedente. La tesi 19h (piatto unico “ristretto”) è stata realizzata pulendo le mangiatoie ciascun giorno alle ore 15:00 e lasciandole vuote fino alle ore 20:00; in questo modo gli animali hanno avuto il piatto unico disponibile a volontà solamente per 19 ore.

Le diete sono state somministrate utilizzando lo schema sperimentale del quadrato latino bilanciato, studiato per non incorrere nell’effetto “*carry over*” (Kim e Stein, 2009); in Tabella 8 lo schema sperimentale adottato.

Tabella 8. Schema utilizzato nella somministrazione delle razioni sperimentali.

	Coppia 1	Coppia 2	Coppia 3	Coppia 4
Periodo I	24hF+	24hF-	19hF+	19hF-
Periodo II	24hF-	19hF-	24hF+	19hF+
Periodo III	19hF+	24hF+	19hF-	24hF-
Periodo IV	19hF-	19hF+	24hF-	24hF+

SCHEMA DI CAMPIONAMENTO

I rilievi giornalieri, effettuati durante la settimana sperimentale, hanno riguardato i seguenti parametri: ingestione individuale di alimento (unifeed e fieno), di acqua, peso degli animali, quantità e qualità del latte prodotto, digeribilità apparente della fibra. Sono stati inoltre continuamente monitorati la ruminazione, la temperatura e il pH ruminale. Inoltre, anche le condizioni ambientali sono state monitorate giornalmente. Lo schema di campionamento seguito è riportato in Tabella 9.

Tabella 9. Schema di rilevazioni e campionamenti adottato durante la sperimentazione.

Matrice	Fase	
	Adattamento	Campionamento
Unifeed	-	Giorno 16, 17, 18, 19, 20 e 21
Fieno lungo	-	Giorno 16, 17, 18, 19, 20 e 21
Intake unifeed, fieno e acqua; tempo di ruminazione; peso vivo; produzione; pH e temperatura reticolo-ruminale	Individualmente giornalmente	
Residui di mangiatoia individuali (h 19:00)	-	Giorno 16, 17, 18, 19 e 20
Liquor ruminale	-	Giorno 20 (20:00h), 21 (8:00h)
Qualità delle produzioni	-	Giorno 16, 17, 18, 19
Feci	-	Giorno 16, 17, 18, 19 e 20
Condizioni ambientali	Giornalmente	

ANALISI DEGLI ALIMENTI

ANALISI CHIMICHE

Le materie prime utilizzate sono state analizzate per ogni nuova partita, mentre i fieni e le razioni sotto forma di piatto unico sono state analizzate giornalmente durante i periodi di campionamento. La composizione dei foraggi e dell'unifeed sono stati valutati in prima battuta mediante spettroscopia del vicino infrarosso (NIR) successivamente confermati da analisi chimiche (Palmonari *et al.*, 2017).

L'unifeed e i fieni sono stati analizzati previa essiccazione in stufa a 65°C fino a peso costante, seguita da macinazione con Cyclotec per ottenere una granulometria del campione di 1 mm.

Le rilevazioni effettuate sono state:

- Proteine, lipidi e ceneri grezze;
- Frazioni dei carboidrati (aNDFom, ADF, ADL, uNDF, amido e zuccheri);
- Degradabilità delle fibre a 24 e 240 ore.

ANALISI FISICHE

Per valutare la granulometria dell'alimento e determinare il quantitativo di peNDF presente nella razione, sono state eseguite le analisi fisiche mediante Ro-Tap (Mertens, 1997) e setacciatura con Pennsylvania State Particle Separator (Kononoff *et al.*, 2003a).

Lo strumento Pennsylvania State Particle Separator (PSPS) è formato da una pila di quattro elementi (partendo dall'alto): setaccio con fori di 19 mm di diametro, setaccio con fori di 8 mm di diametro, setaccio con fori da 1.18 mm e un fondo chiuso. Si procede inserendo 500 g di unifeed sul setaccio superiore e si agita orizzontalmente su una superficie liscia e piana per 40 volte, ruotando lo strumento di un quarto di giro ogni 5 oscillazioni compiute con un'escursione di 17 cm alla frequenza di 1.1 movimenti completi al secondo (Lammers *et al.*, 1996). Una volta terminata la setacciatura si pesa il residuo trattenuto in ogni setaccio e nel fondo chiuso e si calcola la sua percentuale in relazione al quantitativo totale inserito. Ogni campione è stato setacciato in doppio ed è stata calcolata la media dei valori. Tutte le analisi sono state compiute dallo stesso operatore.

La setacciatura dell'unifeed con Ro-Tap è stata eseguita seguendo la procedura standard (Mertens, 1997), utilizzando il setacciatore automatico Ro-Tap (modello B, W. S. Tyler Combustion Engineering Inc., Mentor, OH). Si tratta di una macchina che scuote con movimenti orizzontali e verticali predeterminati e continui nel tempo una pila di setacci più un fondo chiuso. Le aperture dei fori dei setacci utilizzati sono (partendo dall'alto): 19 - 13.2 - 8 - 6.7 - 4.75 - 3.35 - 2 - 1.18 - 0.6 - 0.3 - 0.15 mm più un fondo chiuso. Si procede inserendo 50 g di unifeed essiccato sul setaccio superiore, l'intera pila viene poi alloggiata nella macchina scuotitrice che la agita per 10 minuti. Una volta terminata la setacciatura si pesa il residuo trattenuto in ogni setaccio e nel fondo

chiuso e si calcola la sua percentuale in relazione al quantitativo totale inserito. Ogni campione è stato setacciato in doppio ed è stata calcolata la media dei valori. Tutte le analisi sono state compiute dallo stesso operatore.

Il calcolo della peNDF si ottiene moltiplicando il valore di NDF per il “fattore di efficacia” (PEF) ottenuto stimando la sostanza secca della frazione con diametro maggiore del PSPS (4 mm) o del Ro-Tap (1.18 mm), secondo la seguente formula:

$$\text{peNDF} = \text{PEF}_{(>4\text{mm o } >1.18\text{mm})} * \text{NDF}$$

INGESTIONE DI SOSTANZA SECCA E ACQUA DI ABBEVERATA

Durante la sperimentazione, la quantità di alimenti ingerita (unifeed e fieno lungo) è stata registrata individualmente in maniera continua e quotidiana grazie all’uso di bilance automatiche posizionate sotto le mangiatoie davanti alle poste fisse (Fabermatica, Ostiano, Italia). La quantità di acqua di abbeverata è stata registrata manualmente il mattino (ore 8:00) e la sera (ore 20:00) mediante contatori individuali e riportata come consumo giornaliero.

RILEVAZIONE DELLA FUNZIONALITÀ RUMINALE

Il pH reticolo-ruminale, la temperatura, l’attività e la motilità ruminale di ogni animale sono stati continuamente monitorati mediante due diversi sistemi automatici.

Il tempo di ruminazione è stato rilevato giornalmente per ogni bovina della stalla attraverso il sistema RuminAct (Hr-Tag, SCR® Engineers Ltd, Israele, Lindgren, 2009) posizionato su un collare che riconosce il rumore di rigurgito e di deglutizione del bolo mericico e che, per differenza tra i tempi, ne deduce il tempo dedicato all’attività di ruminazione. Attraverso delle antenne posizionate all’interno della stalla i dati vengono trasferiti al computer in cui è installato il software di gestione (DataFlow v. 3.7.118 – SCR® - Israel) che elabora e memorizza i dati. Attraverso un apposito comando i tempi di ruminazione giornaliera individuali per vacca sono stati esportati in un foglio di calcolo come somma dei minuti ruminati per intervalli di due ore e successivamente effettuata la somma giornaliera.

La rilevazione del pH e della temperatura reticolo-ruminale è stata effettuata in continuo attraverso il sistema “Sma Xtec® pH Monitoring System” (Sma Xtec GmbH®– Austria, 2011). Il sistema è costituito da dei boli ruminali (3.5 cm diametro, 12 cm lunghezza, 210 g peso) che vengono inseriti nelle bovine tramite una sparaboli (processo atraumatico) e che si localizzano per il 90% del tempo nel reticolo (per questo si decide di usare la dicitura reticolo-ruminale). Il bolo rileva a intervalli di 10 minuti il pH e la temperatura e trasmette i dati via radio a un sistema di antenne che a loro volta li trasferiscono in un server remoto. Attraverso il programma Sma Xtec® pH Software (Sma Xtec GmbH®– Austria, 2011, v. 1.3.3) è possibile accedere ai dati salvati in remoto, visualizzarli sottoforma di grafici e tabelle ed esportarli in un foglio di calcolo. Il bolo

ruminale è costituito da un involucro sintetico resistente all'ambiente, una faccia sensibile (che va mantenuta in umido), un microprocessore di controllo, una memoria flash, un sistema di trasmissione radio (a 433 Mhz libera da interferenze) ed una batteria. La durata della batteria determina la durata del tempo di raccolta dei dati, ed è garantita dall'azienda una durata minima di 5 mesi dall'attivazione. Prima dell'inserimento nel ruminale i pHmetri devono essere sottoposti a una procedura di inizializzazione costituita da: accensione, impostazione data e ora, calibrazione in una soluzione a pH 7 e attribuzione dell'animale di destinazione indicando matricola e numero aziendale. La validazione di questo sistema è stata fatta da Gasteiner (2009) osservando le rilevazioni dei boli, già inizializzati e calibrati, in soluzioni a pH 4 e a pH 7 per 4 ore. Successivamente i pHmetri sono stati utilizzati in manze per 40 giorni, estratti e reinseriti in soluzioni a pH 4 e a pH 7 per 4 ore. I risultati dimostrano l'affidabilità del sistema con un coefficiente di correlazione osservato di 0.9987 su 84 rilevazioni, ed uno scostamento medio del $2.44\% \pm 1.76$ a pH 4 e del $1.53\% \pm 1.26$ a pH 7. Durante la prova nessun bolo ha dato segni evidenti di malfunzionamento per tutto il periodo sperimentale. Dai dati grezzi sono stati poi calcolati individualmente per vacca il pH medio giornaliero, i minuti con $\text{pH} < 5.8$ e $\text{pH} < 5.5$ (Ghorbani *et al.*, 2002), l'area con $\text{pH} < 5.8$ (=minuti*(5.8-pH misurato)) e $\text{pH} < 5.5$ (=minuti*(5.5-pH misurato)) (Penner *et al.*, 2007), i minuti oltre le 4 ore a $\text{pH} < 5.8$ e a $\text{pH} < 5.5$ (Calsamiglia *et al.*, 2002; Paton *et al.*, 2006).

LIQUOR RUMINALE

Negli ultimi due giorni di ciascun periodo sperimentale, alla sera (ore 20:00) del 20esimo giorno e alla mattina (ore 8:00) del 21esimo giorno, successivamente alle rispettive mungiture, sono stati effettuati i prelievi di liquido ruminale a ciascuna bovina in prova. Il prelievo è stato effettuato tramite l'utilizzo della sonda esofagea (Geishhauser, 1990) collegata ad una pompa per il vuoto. Il liquido raccolto è stato congelato in attesa della successiva analisi. Il liquido ruminale è stato poi trasportato nel laboratorio del dipartimento DIMEVET per determinare il contenuto in ammoniaca e AGV (acidi grassi volatili). L'analisi degli AGV è stata eseguita dopo un opportuno scongelamento a temperatura ambiente e la preparazione per l'analisi mediante gascromatografia. L'analisi dell'ammoniaca è stata eseguita partendo dagli stessi campioni utilizzati per l'analisi degli AGV ed è stata effettuata avvalendosi di kit commerciali.

QUANTITÀ E QUALITÀ DEL LATTE

Per tutto il periodo sperimentale è stata rilevata la quantità e la qualità individuale del latte di tutte le bovine sottoposte alla prova. Sono stati utilizzati sia i tradizionali che i moderni sistemi di analisi in linea di seguito descritti. La rilevazione della quantità di latte prodotto avviene in maniera automatica durante le operazioni di mungitura mediante il lattometro elettronico inserito nel sistema di controllo e gestione della sala di mungitura Afimilk (S.A.E. Afikim – Israel). La rilevazione viene fatta individualmente per ogni vacca e per ogni mungitura. I dati giornalieri poi sono stati ottenuti esportandoli dal computer di stalla attraverso il software di gestione del sistema (Afifarm v.3.072 S.A.E. Afikim – Israel) che li elabora e li memorizza automaticamente.

Le rilevazioni qualitative con la stima in linea della percentuale di grasso e proteine nel latte sono automatiche durante le operazioni di mungitura mediante il dispositivo Afilab (Afimilk - S.A.E. Afikim – Israel) integrato nella sala mungitura. Si tratta di un sistema di analisi in linea che sfrutta la tecnologia MIR (spettroscopia nel medio infrarosso). Anche in questo caso la rilevazione viene fatta individualmente per ogni vacca e durante ogni mungitura. I dati giornalieri del contenuto percentuale del grasso e delle proteine sono stati ottenuti esportandoli dal computer della stalla attraverso il software di gestione del sistema (Afifarm v.3.072 S.A.E. Afikim – Israel) che li elabora e li memorizza automaticamente. Tali dati non sono però stati oggetto di valutazione dal punto di vista scientifico, ma sono solo stati usati come monitoraggio in tempo reale nello svolgimento della sperimentazione, in quanto tali sistemi non sono validati e accettati dalla totalità della comunità scientifica.

Il monitoraggio della qualità con metodiche validate durante la prova è stato eseguito mediante analisi, con tecniche validate, di campioni individuali di latte inviati presso il laboratorio Gran-latte Granarolo (Foss 4000; Foss Technology) per quanto riguarda il contenuto percentuale di grasso, proteine, lattosio e il numero di cellule somatiche. I campioni sono stati prelevati con auto-campionatore nei giorni 16, 17, 18 e 19 delle settimane sperimentali, secondo lo schema riportato in Tabella 10. L'aliquota di latte raccolto è stata opportunamente miscelata e omogeneizzata prima di essere versata nel contenitore destinato alle analisi. Le aliquote sono state formate miscelando il 50% del latte della mungitura della sera e della mattina del giorno seguente e conservate a temperatura di refrigerazione (+4°C). Tutti campioni sono stati inviati, rispettando le condizioni di refrigerazione, al laboratorio entro poche ore.

La quantità di latte ECM (*Energy corrected milk*, latte corretto per il contenuto in energia) è stata calcolata per i risultati delle analisi tradizionali partendo dalla produzione giornaliera rilevata dal lattometro automatico utilizzando la seguente formula (Tyrrell e Reid, 1965):

$$\text{Latte ECM, kg} = 0.327 * \text{kg latte sula tal quale} + 12.95 * \text{kg grasso} + 7.2 * \text{kg proteina}$$

Tabella 10. Schema di campionamento del latte per l'analisi qualitativa.

Giorno 16	Giorno 17	Giorno 18	Giorno 19
-	h 7:00	h 7:00	h 7:00
h 19:00	h 19:00	h 19:00	-

DIGERIBILITÀ DELLA FIBRA

La digeribilità della fibra (Total Tract Digestibility_TTD) è stata valutata prelevando dei campioni di feci direttamente dall'ampolla rettale (ad intervalli di 15 ore per 8 volte, secondo lo schema riportato in Tabella 11) per ottenere un campione rappresentativo dell'intera settimana sperimentale. La digeribilità riferita all'aNDFom e alla pdNDF è stata calcolata attraverso la seguente formula (Ferraretto *et al.*, 2015):

$$\text{TTD, \%} = 100 - ((\text{uNDF alimento} / \text{uNDF feci}) * (\text{NUTRIENTE feci} / \text{NUTRIENTE alimento}))$$

Tabella 11. Schema di campionamento delle feci per la determinazione della digeribilità della fibra.

Giorno 16	Giorno 17	Giorno 18	Giorno 19	Giorno 20
h 8:00	-	h 5:00	h 11:00	h 2:00
h 23:00	h 14:00	h 20:00	h 17:00	-

2.2.3 ANALISI STATISTICA

Tutti i dati relativi alle risposte produttive e fisiologiche delle bovine sono stati analizzati utilizzando un modello misto in SAS (versione 9.1, Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC). Dipendentemente dalle varie finalità della prova sono stati utilizzati differenti modelli.

Nella valutazione degli effetti dei differenti regimi alimentari sono stati considerati come effetti fissi il tempo di disponibilità dell'unifeed, la presenza del fieno lungo e la loro interazione; come effetti random l'animale e il periodo sperimentale e come misura ripetuta i campionamenti o rilievi.

Nella valutazione del comportamento alimentare inteso come ciclo suddiviso ad intervalli orari per ingestione, ruminazione e pH è stato analizzato come effetto fisso il tempo, come effetti random l'animale e come misura ripetuta gli intervalli orari.

Nella valutazione degli effetti del cambio di disponibilità dell'unifeed sono stati considerati come effetti fissi e come misura ripetuta il giorno sperimentale e i singoli intervalli orari e come effetti random l'animale.

Tutti i dati relativi alla valutazione della variabilità di granulometria registrata durante la prova sono stati analizzati utilizzando il modello dei minimi quadrati in JMP (versione 13, Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC) considerando come effetti fissi l'operatore carrista e misura ripetuta i singoli carri unifeed.

È stato dichiarato un livello di alta significatività con $P < 0.01$, di significatività per $P < 0.05$, mentre una tendenza per $P < 0.10$. Quando è stata evidenziata una significatività è stato applicato un test di Tukey per identificare le differenze tra gli effetti.

2.2.4 RISULTATI E DISCUSSIONE

COMPOSIZIONE DELLA DIETA

In Tabella 12 sono riportate la composizione della dieta e del fieno somministrato nel corso della sperimentazione, da cui si evince che la razione è stata adeguata in termini di composizione nutrizionale (NRC, 2001) e sovrapponibile a razioni a secco senza l'uso di insilati (Fustini *et al.*, 2016, 2017).

Tabella 12. Composizione e caratteristiche medie degli alimenti utilizzate nel corso della ricerca.

	Unifeed	Fieno
Rilevazioni, n°	24	24
Sostanza secca., % s.t.q.	87.66±0.72	88.54±2.93
Lipidi, % S.S.	2.53±0.38	1.64±0.20
Ceneri, % S.S.	9.76±0.37	8.93±0.63
aNDFom, % S.S.	31.44±5.45	58.46±3.45
ADF, % S.S.	20.77±4.18	42.61±1.62
ADL, % S.S.	2.94±0.64	6.62±0.80
NDFD240h, % aNDF	77.33±6.95	67.02±3.21
d-NDF 24h, % aNDF	45.51±3.44	44.74±5.27
uNDF, % S.S.	6.40±1.98	17.82±5.40
Amido, % S.S.	23.55±4.78	1.98±2.12
Zuccheri, % S.S.	6.96±0.56	4.79±0.66
Proteina grezza, % S.S.	14.28±0.90	8.76±1.10
P.SOL, % S.S.	3.91±0.44	3.55±0.37
NDIP, % S.S.	3.00±0.28	4.92±0.65
ADIP, % S.S.	1.01±0.07	1.55±0.15

GRANULOMETRIA DELLA DIETA

Le granulometrie rilevate giornalmente per tutta la durata della prova mediante i due sistemi di setacciatura utilizzati sono riportate nella Tabella 13.

La fibra fisicamente efficace (peNDF), calcolata moltiplicando il valore di NDF della dieta per la quota di particelle superiori a 1.18 mm misurate con Ro-Tap, mostra valori medi di $14.14 \pm 1.30\%$ decisamente inferiori al minimo (21 %) suggerito (Heinrichs, 2013; Kmicikewycz *et al.*, 2015). Questi valori non devono destare preoccupazione perché le linee guida si basano sull'esperienza nord americana, mentre nell'area del Parmigiano Reggiano l'uso di soli foraggi secchi, su cui viene operata una trinciatura spinta, porta ad un effetto importante sulla granulometria; precedenti esperienze condotte dai ricercatori del DIMEVET hanno indicato che la peNDF da considerare nel caso di unifeed a secco (a contenuto di amidi relativamente modesto), utile per mantenere buone condizioni di pH ruminale, possa essere compresa fra il 14 e il 16 % della razione (Fustini *et al.*, 2010). Infatti, questi livelli di granulometria minimizzano il rischio di cernita della dieta a favore dei concentrati (Maulfair *et al.*, 2011; Fustini *et al.*, 2016).

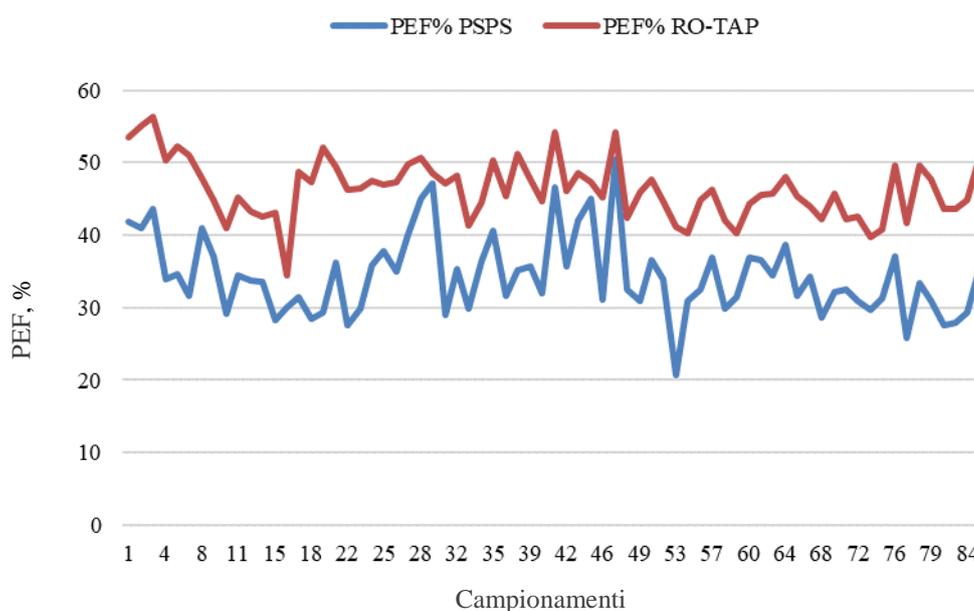
Tabella 13. Risultati relativi alla granulometria dell'unifeed valutata con diversi sistemi di setacciatura.

	Unifeed
Rilevazioni, n°	84
PSPS*	
19mm % T.Q.	0.39±0.79
8mm % T.Q.	15.18±5.10
4mm % T.Q.	18.73±1.92
Bottom % T.Q.	65.69±5.60
RoTap % >1.18	46.24±3.90
peNDF % S.S.	14.14±1.30

*PSPS: Penn State particle size separator (Maulfair *et al.*, 2011)

Dalla Figura 9 si osserva come il valore di efficacia fisica della razione (PEF) sia notevolmente variabile nel corso della sperimentazione. Questo rilievo evidenzia un punto di criticità legato alla qualità dell'unifeed, con implicazioni fisiologiche che questa variabilità può determinare sulla ruminazione e più in generale lo stato di salute delle bovine. Le differenze nel PEF possono rappresentare un diverso grado di trinciatura, dipendente dal tipo di foraggio impiegato, dai tempi di lavoro e dalle condizioni ambientali (umidità in particolare). Tra i valori di PEF misurati con questi due sistemi vi è una correlazione del 64 % con una differenza di 12 punti percentuali più elevati per il PEF misurato con Ro-Tap (Figura 12). Quindi i due sistemi hanno una discreta correlazione nel misurare le variazioni giornaliere che si manifestano in allevamento, ma un discostamento sostanziale nel valore misurato. Questa differenza è ascrivibile alle caratteristiche intrinseche dello strumento. Il PSPS come descritto precedentemente (Heinrichs *et al.*, 2013) è nato per una misurazione di campo negli USA, dove il foraggio prevalente è il silomais e le razioni hanno un contenuto di umidità molto maggiore a quelle utilizzate in questa sperimentazione. Quindi il vaglio di 4 mm, cut-off utilizzato da questo sistema per discriminare quello che è fisicamente efficace, non appare adeguato per una razione a secco basata su fieni. Viceversa, il Ro-Tap, che nasce più da un'ottica di ricerca, utilizza campioni precedentemente essiccati, annullando quindi la differenza in SS tra le differenti tipologie di unifeed, ma nel calcolo del PEF viene utilizzato come valore soglia 1.18 mm, valore che con l'utilizzo di fioccolato di mais, come nel nostro caso, trattiene parte di questo concentrato. In conclusione, i difetti riscontrati da questi due sistemi vertono nella sottostima del PSPS, causata dall'utilizzo di unifeed a secco, e dalla sovrastima del Ro-Tap dovuta all'utilizzo di concentrati di elevato particolato.

Figura 9. Andamento del fattore di efficacia fisica (PEF) percentuale misurato giornalmente con i due sistemi di setacciatura (PSPS e Ro-Tap) nel corso della prova.



In Figura 10 e 11 è rappresentata la distribuzione dei valori con i due metodi di setacciatura e la statistica descrittiva dei valori con il calcolo del coefficiente di variazione (C.V.). Tra le due metodiche sono state rilevate delle differenze nel coefficiente di variazione che, oltre ad essere parzialmente imputabili alle caratteristiche intrinseche delle metodiche, sono ascrivibili alla variabilità determinata dall'operatore, in quanto la metodica PSPS ha una forte influenza dalle oscillazioni dell'operatore (che nello specifico della prova era unico ed addestrato); al contrario, il Ro-Tap, essendo un metodo automatico, elimina questa variabilità, ottenendo un CV inferiore (-0.07 punti).

Figura 10. Distribuzione della granulometria dell'unifeed valutata con il setaccio PSPS, espressa come percentuale delle particelle superiori a 4 mm sul totale del peso.

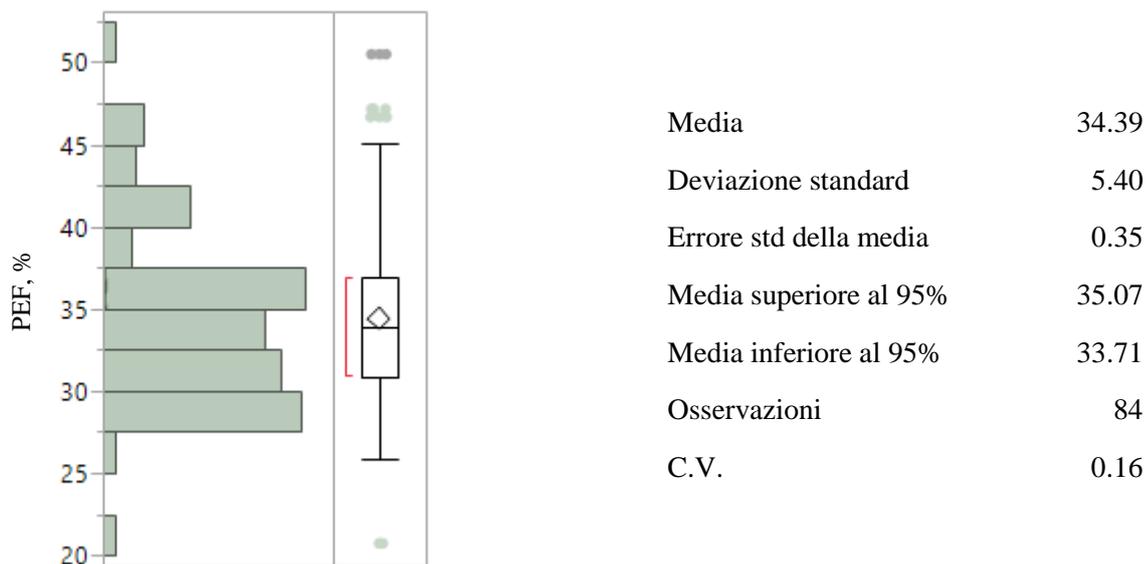


Figura 11. Distribuzione della granulometria dell'unifeed valutata con il setaccio Ro-Tap, espressa come percentuale delle particelle superiori a 1.18 mm sul totale del peso.

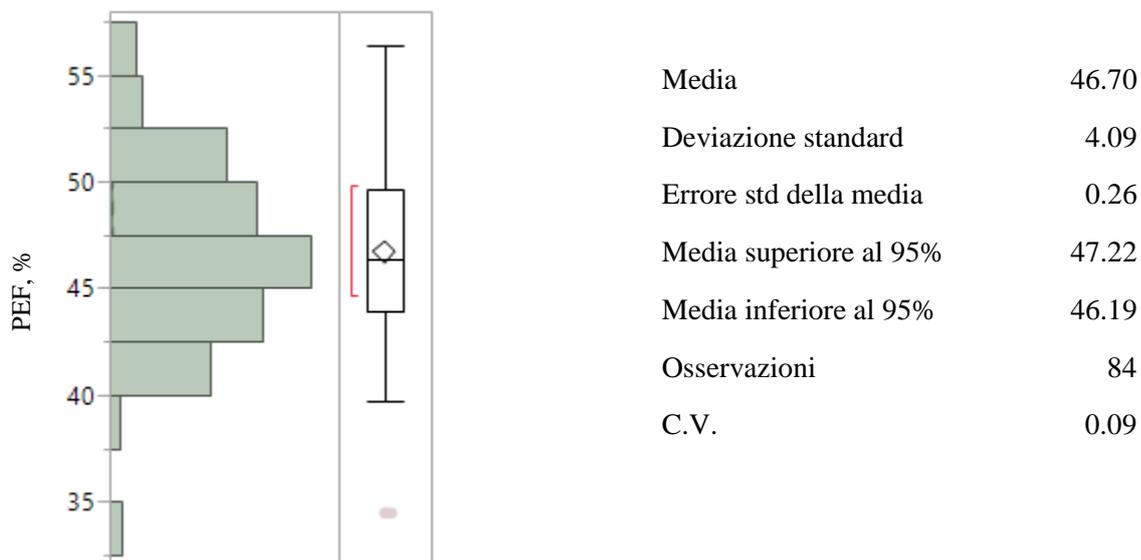
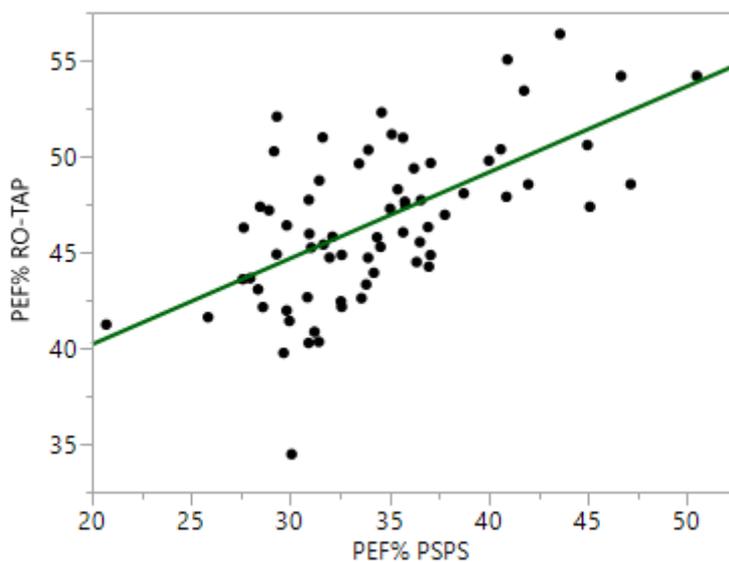


Figura 12. Analisi della correlazione tra il sistema Ro-Tap e PSPS nella misura del parametro di PEF, espresso in percentuale dell'unifeed.



Correlazione	0.64
R-quadro	0.35
R-quadro corretto	0.35
Scarto quadratico medio	3.30
Media della risposta	46.65
Osservazioni	84

Nella Figura 13 è presentato il valore di aNDFom dell'unifeed misurato nel corso della prova, come indice della qualità dei fieni impiegati, considerando trascurabili gli errori di carico (dato verificato attraverso il registratore presente sulla centralina del carro). L'aNDFom misurata nel corso della prova ha avuto un andamento abbastanza variabile (C.V. 0.08), attestandosi intorno a valori minimi di 26 e massimi di 36 (Figura 14). Si può dunque affermare come l'omogeneità dei fieni impiegati sia un fattore di notevole criticità nella formulazione dell'unifeed. Bisogna ricordare che in questa prova il foraggio era rappresentato da un unico fieno, proveniente dal primo taglio di un medicaio (caratterizzato dalla dominanza delle graminacee), fattore che di per sé può determinare variabilità compositiva.

Figura 13. Andamento dell'aNDFom (%SS) misurato nel corso della prova.

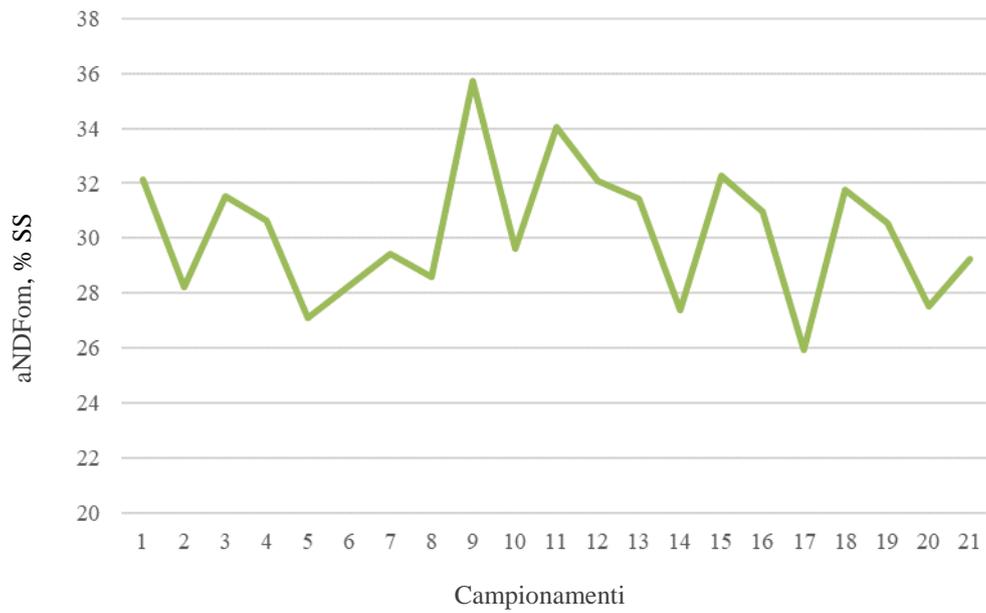
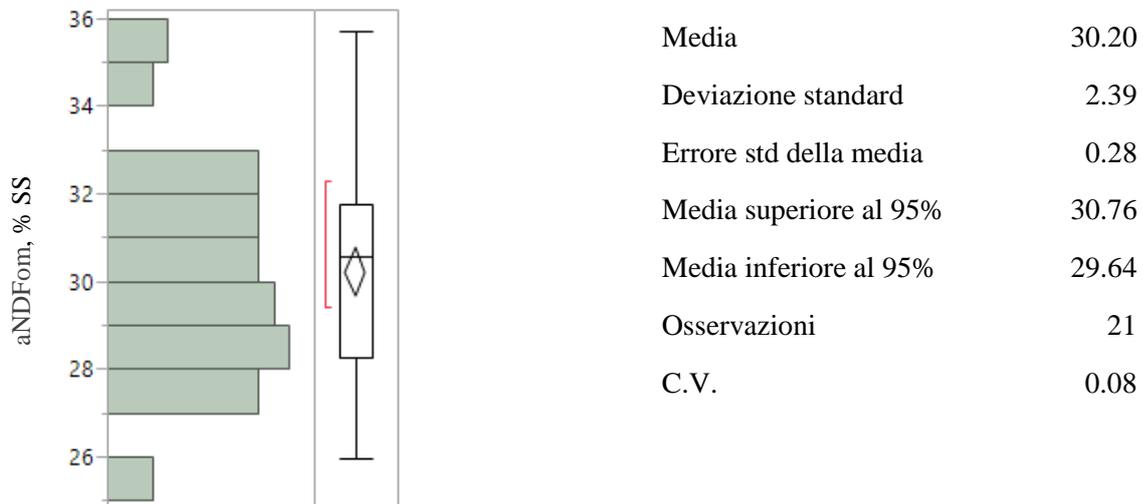


Figura 14. Distribuzione della aNDFom dell'unifeed in percentuale sulla sostanza secca nel corso della sperimentazione.

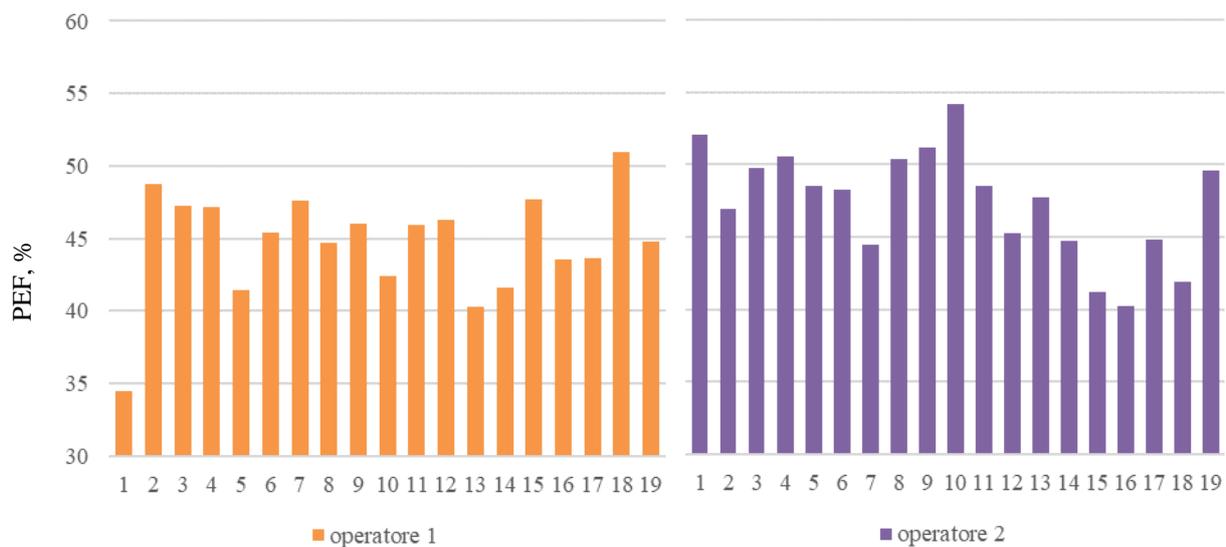


In Tabella 14 sono riportati i risultati relativi al confronto delle granulometrie degli unifeed setacciati durante la sperimentazione in relazione all'operatore che ne ha curato la preparazione. Dai dati si denota una variabilità significativa tra i due operatori carristi, poiché hanno mostrato differenze statisticamente evidenti con entrambi i metodi di setacciatura. Questo denota come il "fattore carrista" sia un importante elemento di variabilità nella preparazione del carro e la formazione del personale debba essere effettuata in modo puntuale. Tuttavia, osservando la Figura 15 notiamo come la variabilità intra operatore sia comunque molto elevata, indicando un ruolo preponderante delle caratteristiche del foraggio impiegato sulla granulometria. Il calcolo del coefficiente di variazione (C.V.) per i valori di PEF fatti registrare da questi due operatori ha mostrato lo stesso risultato (0.08).

Tabella 14. Risultati relativi alla variazione di granulometria in relazione all'operatore carrista misurati con i due sistemi di setacciatura.

Parametro	Operatore		SEM	<i>P</i>
	1	2		
PEF% PSPS	31.20	35.36	1.67	<.01
PEF% Ro-Tap	44.69	47.67	1.24	<.01

Figura 15. Andamento del fattore di efficacia fisica percentuale (PEF%) misurato con il sistema Ro-Tap diviso per operatore nel corso della prova.



Rilevazioni

ASSUNZIONE DI ALIMENTO

In Tabella 15 sono riportate l'ingestione di sostanza secca (SS) totale, da unifeed e da fieno registrate nel corso della ricerca. Dai risultati ottenuti si evidenzia come nelle bovine alimentate con unifeed *ad libitum* (24h) rispetto la tesi ristretta (19h) ci sia una maggiore ingestione di sostanza secca (25.98 vs 23.49 kg, SEM = 1.66, $P < 0.05$). Va sottolineato come le bovine alimentate con unifeed e fieno a volontà abbiano avuto le migliori performance in termini di ingestione (+ ~3 kg in comparazione con 19hF-). Quando il fieno è stato offerto in aggiunta all'unifeed è stato consumato in modica quantità (< 1 kg/gg/capo), l'ingestione di fieno lungo è stata dunque sovrapponibile tra le due diete, seppur vi sia stata una tendenza ad assumere più fieno lungo nella dieta ristretta (+ 0.15 kg, in 19hF+, SEM = 0.09, $P < 0.10$). Tuttavia, la maggiore ingestione di fieno non è stata uguale alla riduzione in ingestione di unifeed, probabilmente dovuta alla minore appetibilità o preferenza del solo fieno rispetto l'unifeed. Conseguentemente, la sostanza secca totale ingerita ha mostrato la tendenza ad essere maggiore nelle vacche con l'accesso *ad libitum* alla dieta (26.21 vs 23.85 kg, SEM = 1.70, $P < 0.10$) in comparazione con la tesi razionata. Non è quindi possibile speculare sul tema della preferenza delle bovine nei confronti del fieno lungo o dell'unifeed; tuttavia i dati sperimentali ottenuti in questa ricerca evidenziano che quando le bovine, alimentate con piatto unico a secco e trinciato corto, dispongono di fieno lungo ne consumano modeste quantità e manifestano una certa preferenza per l'alimento strutturato e ricco di fibra. Questo rilievo conferma le esperienze di tipo pratico operativo segnalate da molti allevatori che lasciano a disposizione fieno lungo agli animali in lattazione e confermano quanto rilevato da alcuni autori (Maulfair *et al.*, 2013; Kmicikewycz e Heinrichs, 2014).

Tabella 15. Risultati relativi all'ingestione totale di alimento, di unifeed e fieno lungo.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
SSI, kg	27.85	24.56	24.05	23.65	1.70	<.10	0.13
SS da Unifeed, kg	27.36	24.60	23.27	23.71	1.66	<.05	0.31
SS da Fieno lungo, kg	0.55	-	0.70	-	0.09	<.10	-

INGESTIONE FRAZIONI FIBROSE

In Tabella 16 sono riportate alcune elaborazioni relative al consumo delle varie frazioni fibrose. Il consumo complessivo di aNDFom è risultato tendenzialmente maggiore nelle tesi h24 rispetto a quelle h19 ($P = 0.10$), così come il consumo di aNDFom da foraggi ($P = 0.10$) e pdNDF ($P < 0.10$). Questi risultati erano attesi, in quanto la tesi *ad libitum* ha una maggior disponibilità di alimenti e quindi è prevedibile un maggior consumo di NDF. Altro dato interessante è la tendenza ad un consumo maggiore di aNDFom totale ($P < 0.10$), pdNDF ($P = 0.10$) e significativo da foraggi ($P < 0.05$), uNDF ($P < 0.05$) nelle tesi con disponibilità di fieno lungo *ad libitum*, risultato atteso dato il maggior contenuto di fibra di questa dieta. Anche l'ingestione di peNDF ($P < 0.01$) risulta significativamente maggiore, sempre nelle diete in cui vi è la presenza di fieno a disposizione. Correlando le diverse frazioni fibrose con il peso degli animali non vi sono evidenze statisticamente significative.

Tabella 16. Consumo delle diverse frazioni fibrose.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
aNDFom, kg/gg	8.79	7.66	7.73	7.44	0.54	0.10	<.10
aNDFom, %P.V.	9.39	9.48	9.31	9.51	0.34	0.83	0.24
aNDFom da fieno, kg/gg	5.83	4.97	5.13	4.73	0.38	0.10	<.05
uNDF, kg/gg	1.89	1.60	1.70	1.57	0.12	0.17	<.05
uNDF, %P.V.	0.30	0.26	0.26	0.25	0.02	0.25	0.19
pdNDF, kg/gg	6.91	6.06	6.04	5.88	0.42	<.10	0.10
pdNDF, %P.V.	1.08	0.96	0.92	0.94	0.07	0.18	0.44
peNDF, kg/d.	4.30	3.60	3.85	3.44	0.28	0.16	<.01
peNDF, %P.V.	0.68	0.58	0.59	0.56	0.05	0.21	0.15

COMPORAMENTO ALIMENTARE

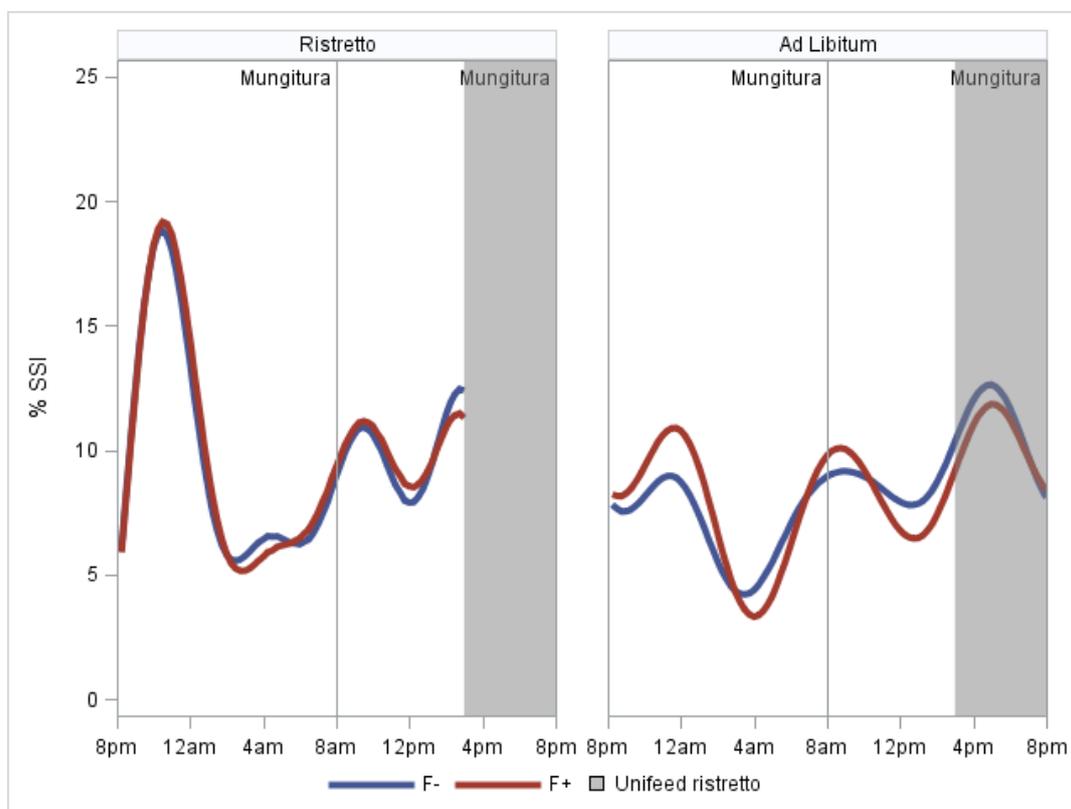
In Tabella 17 e Figura 16 sono riportati i pattern di ingestione come % di SSI sul totale. I dati registrati evidenziano come la disponibilità a volontà degli alimenti, indipendentemente dalla presenza di fieno aggiunto, porti ad un consumo più omogeneo di sostanza secca nell'arco della giornata. Il consumo di alimenti è compreso fra il 7 e il 12 % circa ogni due ore con i valori minimi che sono stati registrati fra le ore 2.00 e le ore 6.00 del mattino. Nel caso della somministrazione limitata nel tempo di unifeed si è osservato un consumo superiore al 20 % della quantità totale di alimento entro le prime 2 ore dalla nuova somministrazione di alimento. Tale quantità è più che raddoppiata rispetto a quella assunta dalle bovine con dieta fornita *ad libitum*. Questo cambiamento nel comportamento alimentare potrebbe rientrare nel cosiddetto "slug feeding", che si manifesta quando le bovine non vengono adattate a questi cambiamenti alimentari (Fustini *et al.*, 2016). Queste condizioni sono caratterizzate da lunghi periodi di tempo in cui le vacche rimangono senza alimento, a cui segue un rapido consumo di carboidrati facilmente fermentabili atti ad indurre una caduta del pH ruminale (Krause e Oetzel, 2005). In accordo con altri autori (Albright, 1993; Maulfair *et al.*, 2013), gli animali modificano il loro comportamento alimentare dopo l'adattamento ad un differente regime alimentare. Questo avviene, secondo quanto riportato, in vacche in lattazione con a disposizione un limitato quantitativo di unifeed; da ciò risulta un incremento della velocità di ingestione che comporta sostanziali modificazioni nella produzione di AGV e incrementa il rischio di SARA (Van Soest, 1994). Precedenti lavori (Kmicikewycz e Heinrichs, 2014) hanno dimostrato che la disponibilità di fieno lungo senza la somministrazione di unifeed può diminuire il rischio di SARA in vacche in lattazione. La disponibilità di fieno lungo potrebbe anche limitare la possibilità che una notevole quantità di alimento venga consumata nel primo pasto dopo la distribuzione del nuovo unifeed.

La Figura 16 mostra la SSI lungo l'arco della giornata come percentuale del totale assunto. Dato il minimale consumo di fieno consumato durante la restrizione, non viene qui mostrato per semplificazione. La distribuzione del nuovo unifeed alla sera piuttosto che al mattino è pratica comune in zone caratterizzate da climi caldi; questo va quindi ad alterare il comune pattern di ingestione che comunemente vede le maggiori assunzioni il mattino dopo la distribuzione del nuovo alimento (DeVries *et al.*, 2003). La combinazione della restrizione alimentare nel tardo pomeriggio e l'offerta dell'alimento fresco dopo la mungitura della sera risultano in un picco di ingestione alle 20:00 nel gruppo 19h rispetto al gruppo *ad libitum*. Un picco di ingestione di SS si è registrato anche nel gruppo *ad libitum* dopo la somministrazione del nuovo alimento, successivamente ulteriori due picchi il mattino presto e il pomeriggio. Offrire fieno lungo come alimento separato ha avuto da pochi a nessun effetto nel profilo circadiano della sostanza secca ingerita durante la giornata. Si è quindi confermata la capacità delle vacche di compensare il totale ammontare di SSI una volta adattate al regime di restrizione alimentare (Maulfair *et al.*, 2013). Dalla somministrazione serale dell'alimento, si vede chiaramente come il pattern alimentare si suddivida in 3 momenti di maggiore ingestione e che questo pattern possa essere stato sensibilmente compromesso dalla restrizione dell'ingestione per 5 ore, prima della nuova somministrazione.

Tabella 17. Assunzione di alimento a intervalli di due ore (% del totale assunto).

% SSI	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
h20:00-h22:00	11.90	10.10	20.90	23.70	1.21	<.01	0.55
h22:00-h24:00	9.10	7.39	10.72	10.40	0.97	<.01	0.13
h24:00-h2:00	7.35	6.44	7.76	8.40	0.81	<.10	0.83
h2:00-h4:00	3.60	4.34	4.55	5.16	0.61	<.10	0.20
h4:00-h6:00	4.51	5.40	5.99	4.95	0.93	0.38	0.90
h6:00-h8:00	11.90	10.80	12.20	10.30	0.88	0.91	<.05
h8:00-h10:00	7.74	7.57	8.63	9.06	0.97	<.10	0.85
h10:00-h12:00	7.62	8.89	9.81	9.79	0.78	<.05	0.35
h12:00-h14:00	7.55	8.50	10.56	10.83	0.73	<.01	0.63
h14:00-h16:00	9.70	11.79	7.43	7.70	0.76	<.01	<.10
h16:00-h18:00	13.24	12.17	0.65	0.00	0.63	<.01	<.10
h18:00-h20:00	5.86	6.59	0.52	0.00	0.46	<.01	0.79

Figura 16. Andamento percentuale dell'ingestione di sostanza secca.



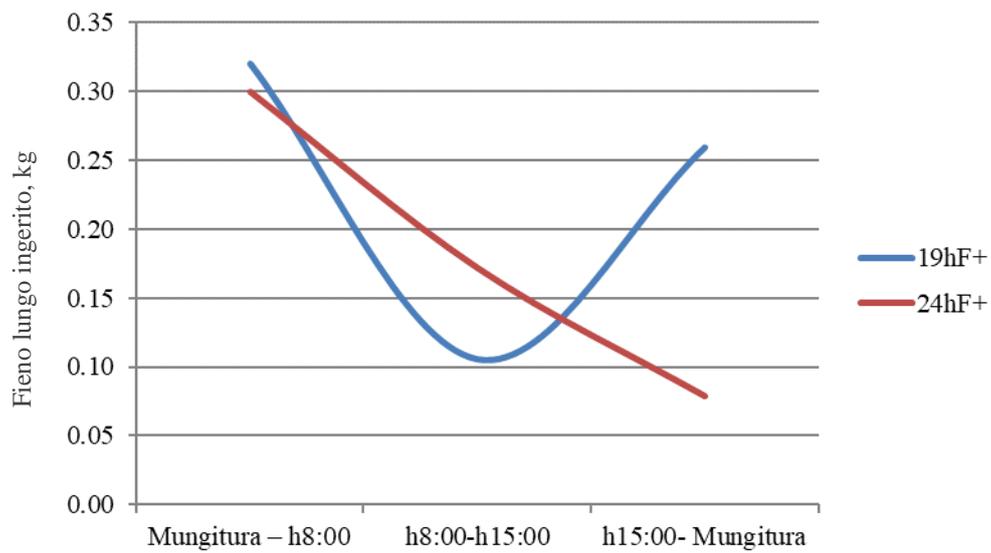
PATTERN DI ASSUNZIONE DEL FIENO

In Tabella 18 e Figura 17 sono riportati i dati dell'andamento dell'assunzione di fieno lungo nelle diete che lo prevedevano. Si può notare come nelle due tesi vi sia un diverso pattern di distribuzione nella giornata nel consumo di fieno: le vacche con unifeed ad libitum (tesi 24h) consumano più del 50 % del fieno totale nelle prime 12 ore dalla distribuzione del nuovo alimento (ore 20:00 - 8:00) e questo consumo diminuisce con il passare del tempo. Viceversa, le vacche in regime "ristretto" consumano il 45 % di fieno nelle prime 12 ore e poi calano drasticamente, per riprenderlo successivamente dopo le ore 15, quando rimangono senza unifeed per 5 ore. Infatti, mentre gli animali con unifeed razionato e fieno a volontà hanno consumato il 37.1 % di fieno lungo nelle 5 ore in cui l'unifeed veniva rimosso, le bovine con unifeed *ad libitum* ne hanno consumato solo il 14.4 % nello stesso periodo. Questo può essere dovuto ad una maggior attenzione degli animali nel consumare unifeed prima che gli venga sottratto e potrebbe indicare una spiccata capacità di adattamento. Tuttavia, va riportato come, in valori assoluti, il quantitativo di fieno assunto (< 1 kg) sia esiguo rispetto al totale della sostanza secca ingerita (Tabella 15).

Tabella 18. Assunzione di fieno lungo rilevata durante la giornata (% del totale assunto).

Fieno lungo ingerito, kg	Disponibilità		SEM	24vs19
	24h	19h		
	F+	F+		
h14:00 - h16:00	53.80	44.30	5.80	0.14
h16:00 - h18:00	32.60	17.80	5.00	<.01
h18:00 - h20:00	14.20	36.10	3.99	<.01

Grafico 17. Andamento dell'assunzione di fieno lungo (kg SS).



ASSUNZIONE DI ACQUA DI ABBEVERATA

In Tabella 19 sono riportati i dati di assunzione di acqua di abbeverata totale e in rapporto alla SSI. Maggiori assunzioni di acqua sono state riportate in associazione alla presenza di fieno lungo ($P = 0.01$) e all'interazione unifeed ristretto e presenza di fieno lungo ($P < 0.01$), risultato di difficile argomentazione. Al calcolo dell'acqua assunta per kg di SSI le tesi ristrette risultano superiori, in particolare quella a cui è stato fornito il fieno a volontà, dato conseguente alla maggior assunzione di acqua e all'assenza di differenze nella SSI.

Tabella 19. Risultati relativi all'assunzione di acqua di abbeverata.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
Acqua, L	178.54 ^b	176.52 ^b	192.04 ^a	172.74 ^b	13.00	0.25	0.01
Acqua/SSI	6.40 ^c	7.29 ^{bc}	9.28 ^a	7.64 ^{bc}	0.48	<.01	0.44

^{a,b,c}: per differenze nell'interazione con $P < .01$.

ANDAMENTO DEL PESO VIVO

In Tabella 20 sono riportati i risultati relativi al peso vivo delle bovine nelle differenti diete sperimentali. Da questi valori si deduce come il peso sia stato uniforme nelle differenti diete e non vi siano state differenze significative. Inoltre, è stata valutata l'evoluzione del peso delle bovine nel corso della prova, nell'ipotesi che queste potessero mobilitare le proprie riserve corporee quando sottoposte ad un regime alimentare di restrizione. Dalle misurazioni effettuate non sono emerse differenze; al contrario, si è verificato un incremento, fisiologico e desiderato, coerente con il procedere della lattazione.

Tabella 20. Risultati relativi al peso vivo medio durante la sperimentazione.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
Peso medio, kg	637.93	637.86	646.56	631.67	20.99	0.76	<.10

ANDAMENTO DELLA RUMINAZIONE

In Tabella 21 è riportato il tempo di ruminazione giornaliero medio per dieta sperimentale. I tempi di ruminazione non differiscono significativamente fra le tesi e si attestano su valori da considerare fisiologici e attesi, valori molto maggiori da quelli considerati minimi a garantire la funzionalità ruminale (> 390 min/gg; Zebeli *et al.*, 2007, 2009). Un'interazione è stata rilevata nella tesi ristretta con la presenza di fieno lungo a volontà risultando dei valori maggiori di ruminazione rispetto la stessa e senza fieno ($P < 0.01$). Il dato era atteso e conferma come i ritmi di ruminazione siano almeno in parte collegati al consumo di fibra fisicamente efficace come quella dei fieni lunghi, soprattutto di graminacee (Mertens, 1997). Livelli di peNDF che nella nostra sperimentazione erano su valori usuali per questa tipologia di razione (Fustini *et al.*, 2017). Al contrario, il fieno lungo non ha avuto alcun effetto nelle diete *ad libitum* (24h).

Tabella 21. Risultati relativi alla ruminazione giornaliera.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
Ruminazione, min/gg	424.98 ^a	443.10 ^a	446.26 ^a	412.22 ^b	30.49	0.62	0.41

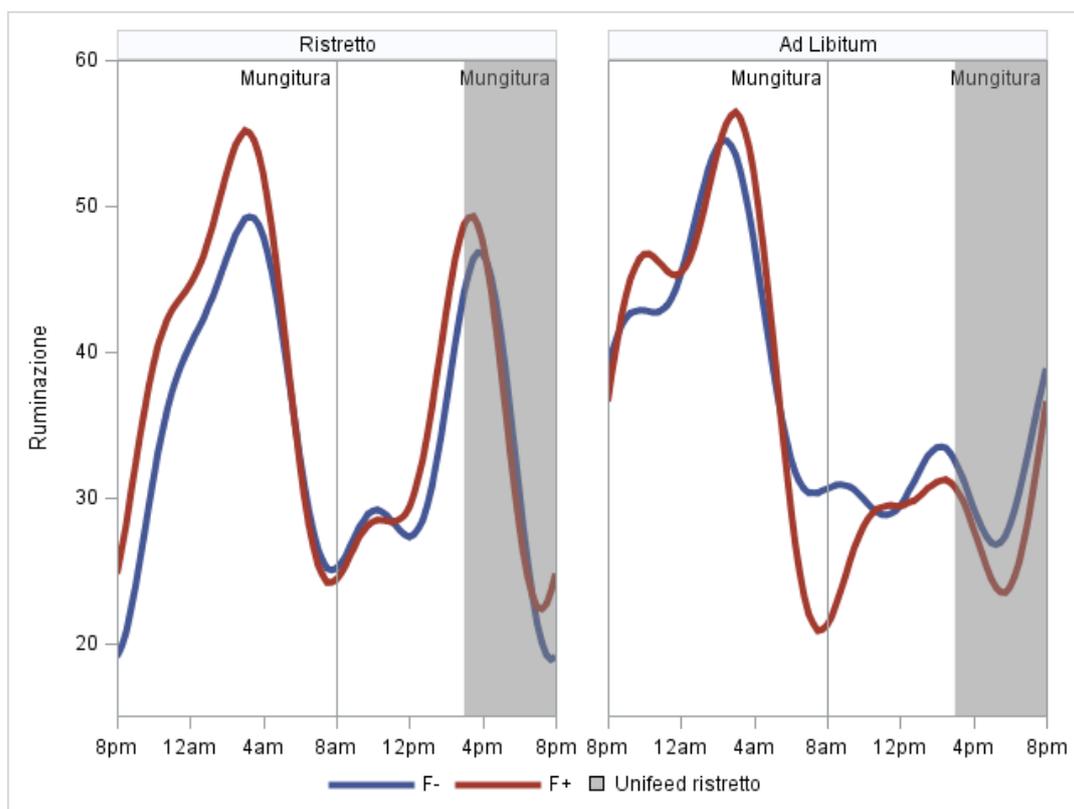
^{a,b}: per differenze nell'interazione con $P < .01$.

In Tabella 22 e Figura 18 sono rispettivamente riportati e rappresentati i tempi di ruminazione giornalieri suddivisi per intervalli di 2 ore. Interessante osservare i grafici dei pattern di ruminazione e affermare che, come atteso, i periodi della giornata in cui si registra la maggiore intensità di ruminazione sono quelli in cui la bovina non assume nuovo alimento (Beauchemin *et al.*, 1990; Sheahan *et al.*, 2011), senza differenze date dalla presenza o assenza di fieno lungo. Dai dati si evince come la ruminazione sia più intensa nelle ore notturne e, solo per gli animali a razione ristretta, nelle ore finali della giornata quando viene a mancare la disponibilità di unifeed. Questi risultati, in parte attesi, dimostrano come la disponibilità di cibo porti gli animali a ruminare in maniera più costante nell'arco della giornata; quando invece la disponibilità di alimento viene ristretta o quando gli animali consumano meno alimento, come avviene nelle ore notturne, la masticazione mericica si fa più intensa quasi a compensare la mancanza di masticazione derivante dal consumo di alimenti.

Tabella 22. Tempo di ruminazione registrati ad intervalli di due ore.

Tempo di ruminazione, min	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
h20:00 - h22:00	46.00	39.40	37.80	33.90	3.24	<.01	0.01
h22:00 - h24:00	46.90	48.20	42.90	41.20	3.14	<.05	0.93
h24:00 - h2:00	52.60	52.50	52.80	47.80	4.14	0.30	0.24
h2:00 - h4:00	52.40	47.70	49.20	46.40	3.85	0.32	<.10
h4:00 - h6:00	28.30	31.90	32.20	33.40	3.71	0.19	0.25
h6:00 - h8:00	22.00	29.80	25.80	25.00	3.55	0.81	0.12
h8:00 - h10:00	28.40	31.30	28.90	27.20	3.89	0.37	0.78
h10:00 - h12:00	32.20	32.10	32.50	34.10	3.41	0.63	0.75
h12:00 - h14:00	30.00	31.70	37.70	34.10	3.58	<.05	0.64
h14:00 - h16:00	30.20	32.30	53.00	51.00	3.03	<.01	0.99
h16:00 - h18:00	21.10	23.20	25.60	24.30	2.72	<.10	0.82
h18:00 - h20:00	39.70	44.30	28.60	23.10	2.90	<.01	0.84

Figura 18. Pattern giornaliero di ruminazione.



PH E TEMPERATURA RETICOLO-RUMINALE

In Tabella 23 sono riportati i dati medi della temperatura e del pH reticolo-ruminale. Per la valutazione del pH è stata presa in considerazione la media giornaliera e i minuti e l'area del pH sotto i valori soglia di 5.8 e 5.5. I risultati giornalieri medi del pH riflettono, dunque, l'effetto di una dieta ricca in foraggi utilizzata nello studio e testimoniano una situazione fisiologica per il tipo di animali in esperimento. Va infatti rimarcato che il tempo in cui il pH è sceso sotto 5.5, valore soglia di massima criticità, di fatto è stato nullo. Al contrario, il pH giornaliero medio è risultato minore ($P < 0.05$) nelle diete dove è stato offerto fieno lungo, senza una motivazione apparente, dato che ciò è in contrasto con studi precedenti (Kmicikewycz *et al.*, 2015). Da sottolineare che il pH medio non ha subito modificazioni tra la somministrazione *ad libitum* o razionata dell'unifeed. Questi risultati, riguardanti la preferenza per l'unifeed e la capacità di adattamento ad un regime ristretto, compensando il minore tempo di disponibilità dell'unifeed con una maggiore ingestione nelle prime ore dopo la distribuzione della razione, conferma la capacità di adattamento delle bovine (Maulfair *et al.*, 2013). La temperatura reticolo-ruminale non ha subito modificazioni durante la sperimentazione.

Tabella 23. Risultati relativi a pH e temperatura reticolo-ruminale.

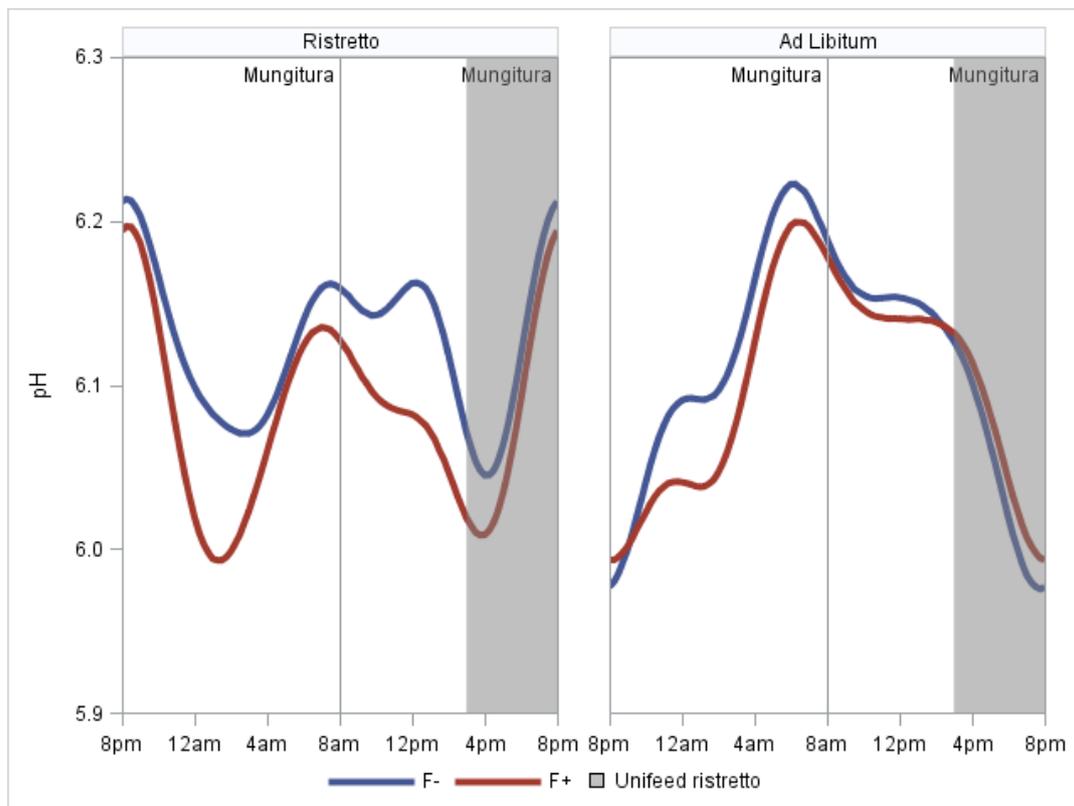
Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
pH medio	6.10	6.11	6.09	6.12	0.09	0.88	<.05
Minuti pH < 5.8	18.79	19.06	22.02	18.44	11.78	0.32	0.21
Minuti pH < 5.5	0.79	0.25	0.10	1.74	0.84	0.51	0.36
Area pH < 5.8	21.44	22.56	24.42	26.79	16.25	0.10	0.43
Area pH < 5.5	0.42	0.05	0.00	1.65	0.74	0.37	0.33
Temperatura °C	38.80	38.86	38.77	38.96	0.12	0.74	0.21

I valori di pH medi ad intervalli di due ore dal momento del pasto (Tabella 24 e Figura 19) indicano livelli tendenzialmente più bassi al momento della somministrazione del pasto e nelle ore finali della giornata per le bovine alimentate con razioni *ad libitum*. La caduta di pH è decisamente più marcata nelle vacche alimentate con unifeed ristretto fra le ore 24:00 e le ore 2:00, probabilmente in ragione del pasto di maggiore entità che si è realizzato alla distribuzione dell'unifeed nel gruppo delle bovine "ristretto". Un altro momento nel quale il pH raggiunge valori più bassi, sempre nelle diete "ristrette", è quello fra le ore 14:00 e 16:00. Nelle diete *ad libitum* il pH continua a scendere nelle ore finali della giornata fino a valori anche inferiori rispetto a quelli osservati nelle diete ristrette; tale rilievo è probabilmente legato al consumo continuo di alimento che genera la produzione di AGV nel rumine. Nelle ultime ore della giornata, nel rumine avviene la fermentazione delle fibre ingerite a partire dal mattino a cui si somma quella degli amidi e degli zuccheri ingeriti qualche ora prima; ciò genera una quantità di AGV superiore che potrebbe giustificare come il pH nelle diete *ad libitum* sia più basso nelle ore precedenti e immediatamente successive alla distribuzione del nuovo alimento.

Tabella 24. Andamento medio del pH registrato ad intervalli di due ore.

pH reticolo-ruminale	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
h20:00 - h22:00	6.04	6.04	6.14	6.16	0.09	<.01	0.55
h22:00 - h24:00	6.02	6.08	6.03	6.09	0.10	0.43	<.01
h24:00 - h2:00	6.06	6.09	6.01	6.07	0.10	<.01	<.01
h2:00 - h4:00	6.11	6.16	6.06	6.08	0.10	<.01	0.01
h4:00 - h6:00	6.21	6.22	6.14	6.13	0.10	<.01	0.41
h6:00 - h8:00	6.17	6.18	6.12	6.16	0.10	<.01	<.05
h8:00 - h10:00	6.15	6.16	6.11	6.13	0.09	<.01	0.05
h10:00 - h12:00	6.14	6.14	6.08	6.16	0.09	<.05	<.01
h12:00 - h14:00	6.14	6.15	6.06	6.11	0.09	<.01	<.01
h14:00 - h16:00	6.11	6.08	6.02	6.04	0.09	<.01	0.61
h16:00 - h18:00	6.05	6.03	6.09	6.11	0.10	<.01	0.77
h18:00 - h20:00	5.98	5.96	6.21	6.21	0.09	<.01	0.32

Figura 19. Andamento del pH registrato nelle 24 ore durante la sperimentazione.



In Figura 20, 21, 22 e 23 sono intersecati i dati relativi all'ingestione di SS, alla ruminazione e al pH reticolo-ruminale ad intervalli di due ore suddivisi per diete. Da questa visione globale si può formulare un'altra ipotesi, che è quella legata al rapporto fra ruminazione e pH. Da questi grafici appare abbastanza chiaramente che, quando i ritmi di ruminazione sono maggiori, si registrano i valori più bassi di pH. Va ricordato che la misurazione del pH avviene nel reticolo perché è proprio in quella sede che si posizionano i boli; ne deriva che il pH registrato è quello relativo al liquor del rumine che transita attraverso il reticolo. Questo lascia immaginare che la relazione fra attività ruminale e pH più basso possa essere almeno in parte collegata al fatto che, quando gli animali ruminano più intensamente, facciano fluire al reticolo un liquor più ricco di AGV (e quindi a pH più basso) perché questi non hanno avuto abbastanza tempo per essere assorbiti dalla parete del rumine. In definitiva, la ruminazione produrrebbe un aumento della velocità di svuotamento del liquor ruminale dal rumine al reticolo e l'abbassamento del pH ne sarebbe l'elemento traccia. Evidentemente queste ipotesi, del tutto innovative, dovranno essere adeguatamente confermate con ulteriori analisi dei dati e future sperimentazioni. In ogni caso, si può ben affermare come nel caso delle diete fornite in quantità ristretta si osservi un andamento della ruminazione e del pH registrato a livello reticolare marcatamente bifasico, mentre nel caso delle razioni fornite a volontà si osservano valori tendenzialmente più costanti di questi parametri. I dati sperimentali ottenuti nella presente sperimentazione sembrano confermare i positivi riscontri di campo

che vedono nella disponibilità *ad libitum* di alimento un fattore di maggiore regolarità dei processi fermentativi e motori nel digerente.

Figura 20. Andamento dell'ingestione (SSI), ruminazione e pH con la dieta ristretta senza l'aggiunta di fieno (tesi 19hF-).

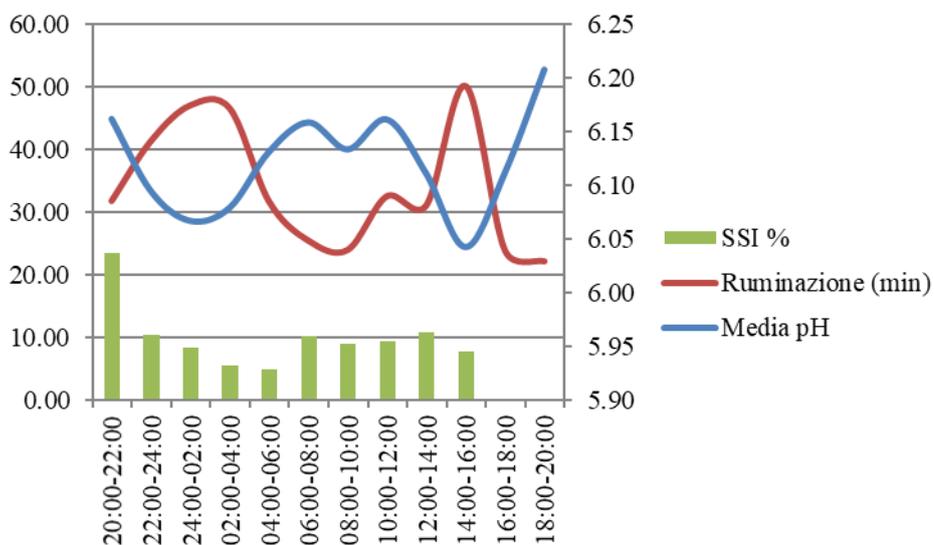


Figura 21. Andamento dell'ingestione (SSI), ruminazione e pH con la dieta ristretta e l'aggiunta di fieno (tesi 19hF+).

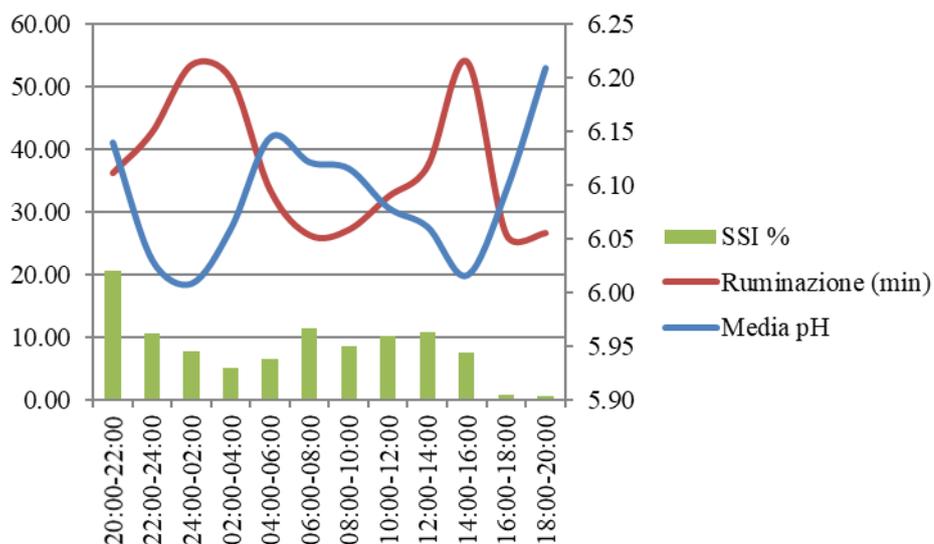


Figura 22. Andamento dell'ingestione (SSI), ruminazione e pH con la dieta a volontà senza l'aggiunta di fieno (tesi 24hF-).

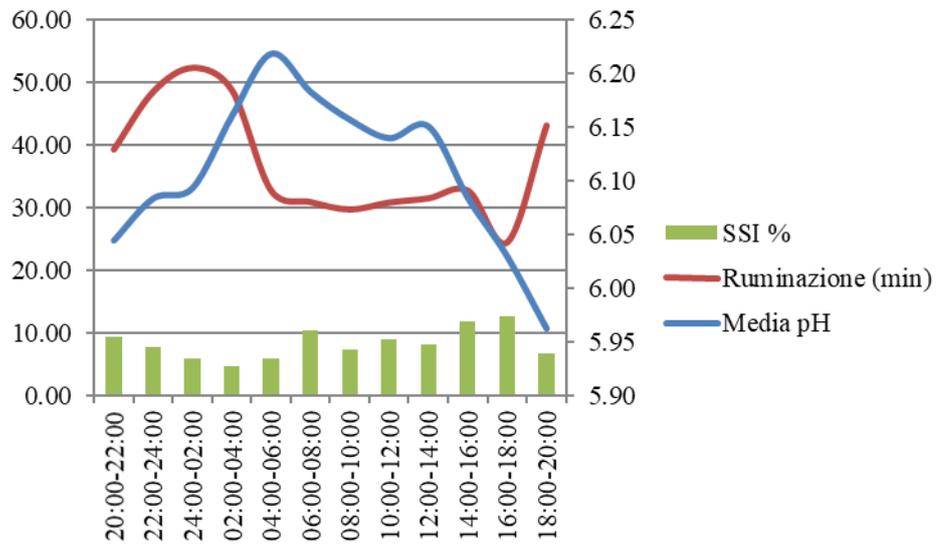
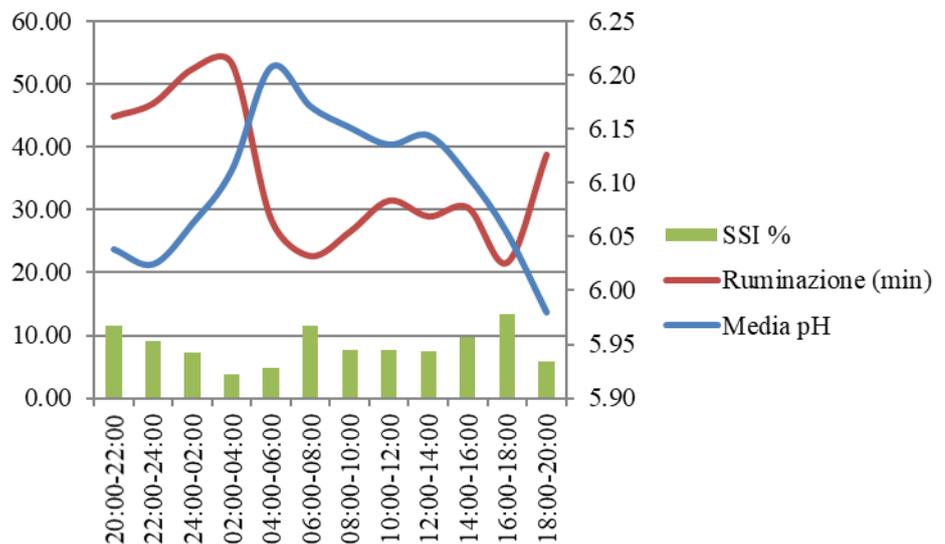


Figura 23. Andamento dell'ingestione (SSI), ruminazione e pH con la dieta ristretta e l'aggiunta di fieno (tesi 24hF+).



LIQUOR RUMINALE

In Tabella 25, 26 e 27 sono riportati i risultati relativi alle analisi del liquor ruminale campionato 12 e 24 ore dopo la distribuzione dell'alimento e la loro media. Non sono emersi risultati significativi per quanto riguarda i valori medi di ammoniaca e AGV del liquor ruminale rilevati nelle diverse tesi sperimentali. I valori ottenuti a 12h dalla distribuzione dell'alimento (ore 8:00) denotano un contenuto tendenzialmente minore di ammoniaca nella tesi con unifeed ristretto (19h). Questo dato fa ipotizzare che in questa fase i batteri ruminali abbiano consumato l'ammoniaca, in quanto nella tesi con l'alimento ristretto (19h) gli animali si alimentano quantitativamente di più durante la notte e quindi hanno una maggiore crescita batterica che utilizza l'ammoniaca come fonte azotata. Viceversa, analizzando i valori ottenuti a 24h dalla distribuzione dell'alimento (ore 20:00), quando gli animali della tesi razionata erano rimasti per 5 ore senza alimento, notiamo valori tendenzialmente più bassi in acetato, propionato e AGV totali e significativamente minori per quel che concerne il butirrato rispetto alle tesi *ad libitum* (24h). Questi risultati evidenziano come la mancata assunzione di alimento per un periodo così prolungato incida negativamente sulla produzione di AGV. Nessuna differenza è stata osservata riguardo il contenuto medio di ammoniaca e AGV ruminali. A 12h dalla distribuzione del nuovo alimento (ore 8:00) è stata osservata la tendenza ad un minore contenuto di ammoniaca in regime di restrizione (19h). Questo può essere spiegato da una ridotta ingestione di sostanza secca per le diete ristrette che permette una maggiore fermentazione della sostanza organica a livello ruminale, in particolare dei carboidrati, permettendo ai batteri di consumare più azoto in quella parte di giornata in cui l'alimento era disponibile. Al contrario, osservando i valori ottenuti nelle diete 24h dopo la distribuzione dell'alimento (ore 20:00), acetato, propionato e AGV totali tendono ad essere minori nelle diete 19h e il butirrato ad essere singificativamente inferiore. Questa condizione è probabilmente dovuta all'assenza di nuovo alimento che possa ridurre la produzione di AGV nel rumine. Tutti gli altri parametri ruminali misurati sono risultati simili. La restrizione di unifeed basato su fieni con offerta di fieno lungo sembra dunque essere in linea con ricerche precedenti che usano diete basate sugli insilati (Kmicikewycz e Heinrichs, 2014). Questo approccio alimentare potrebbe inoltre ridurre l'escrezione di nutrienti data la possibile maggiore digestione della dieta.

Tabella 25. Rilevazioni medie dell'ammoniaca e degli acidi grassi volatili nel liquor ruminale.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
AGV totali, mmol/l	75.84	84.94	79.93	72.60	5.14	0.45	0.87
Ac. Acetico, %/mmol	45.46	50.76	47.54	42.95	3.19	0.37	0.91
Ac. Propionico, %/mmol	18.94	21.92	20.26	18.29	1.86	0.48	0.76
Ac. Butirrico, %/mmol	9.14	9.61	9.48	8.98	0.82	0.49	0.76
Ac. Isobutirrico, %/mmol	0.47	0.56	0.49	0.45	0.08	0.83	0.98
Ac. Valerianico, %/mmol	0.91	1.07	1.06	0.95	0.09	0.88	0.84
Ac. Isovalerianico, %/mmol	0.92	1.02	1.10	0.98	0.13	0.50	0.96
NH ₃ , mg/dl	3.95	4.00	3.33	3.56	0.49	0.24	0.75

Tabella 26. Rilevazioni ore 8:00 (12h dalla distribuzione del nuovo alimento) dell'ammoniaca e degli acidi grassi volatili nel liquor ruminale.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs20	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
NH ₃ , mg/dl	4.23	4.70	3.54	3.24	0.57	0.07	0.88
Ac. Acetico, %/mmol	39.77	48.38	47.03	42.78	4.37	0.86	0.63
Ac. Propionico, %/mmol	15.11	19.63	20.13	17.71	2.09	0.46	0.62
Ac. Butirrico, %/mmol	7.77	8.96	9.95	9.22	1.11	0.24	0.82
Ac. Isobutirrico, %/mmol	0.42	0.61	0.45	0.40	0.09	0.34	0.42
Ac. Valerianico, %/mmol	0.79	0.99	1.05	0.95	0.12	0.37	0.70
Ac. Isovalerianico, %/mmol	0.76	1.03	0.97	0.96	0.15	0.56	0.30
AGV totali, mmol/l	64.62	79.59	79.59	72.03	7.18	0.62	0.62

Tabella 27. Rilevazioni ore 20:00 (24h dalla distribuzione del nuovo alimento) dell'ammoniaca e degli acidi grassi volatili nel liquor ruminale.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs20	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
NH ₃ , mg/dl	3.66	3.31	3.11	3.87	0.51	0.99	0.68
Ac. Acetico, %/mmol	51.17	53.17	47.99	42.61	3.86	<0.10	0.69
Ac. Propionico, %/mmol	22.76	24.20	20.42	19.07	2.45	0.10	0.96
Ac. Butirrico, %/mmol	10.53	10.28	8.97	8.40	0.82	0.03	0.56
Ac. Isobutirrico, %/mmol	0.53	0.51	0.53	0.48	0.08	0.81	0.59
Ac. Valerianico, %/mmol	1.04	1.14	1.07	0.92	0.11	0.44	0.89
Ac. Isovalerianico, %/mmol	1.07	1.01	1.21	0.92	0.14	0.79	0.16
AGV totali, mmol/l	87.08	90.30	80.22	72.75	6.35	0.09	0.77

PRODUZIONE QUANTI-QUALITATIVA DI LATTE

I risultati relativi alla produzione quanti - qualitativa del latte sono riportati in Tabella 28 e 29. Nessuna differenza è stata osservata tra le produzioni di latte delle tesi 24 – 19h; tuttavia, le vacche che hanno assunto fieno lungo supplementare hanno mostrato la tendenza ad incrementare la produzione latte (38.03 vs 35.95 kg, per F+ e F- rispettivamente, SEM = 1.63, $P < 0.10$, Tabella 28). Va comunque ricordato che i valori più bassi di produzione sono, in valore assoluto, quelli forniti dalle vacche alimentate con unifeed ristretto senza la disponibilità di fieno. Le vacche con limitazione nella disponibilità di unifeed hanno avuto la maggiore efficienza alimentare sia in produzione (kg di latte/kg di SSI, $P < 0.05$) che in qualità (kg di ECM/kg di SSI, $P = 0.05$) in comparazione con il gruppo 24h. Questo incremento potrebbe essere il risultato di una più lunga ritenzione degli alimenti e miglioramento della digeribilità della dieta. Inoltre, il peso corporeo delle bovine non è cambiato durante lo studio. Nessuna differenza è stata osservata nella qualità del latte prodotto, grasso, proteina e urea (Tabella 29). Da riportare come la conta di cellule somatiche sia stata tendenzialmente maggiore nella dieta 19h, in particolare quando il fieno lungo non veniva offerto, mentre il lattosio ha avuto la tendenza ad essere maggiore nella tesi 24h, probabilmente per il minor contenuto in cellule somatiche.

Tabella 28. Parametri produttivi del latte.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs19	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
Latte, kg	37.87	36.56	38.19	35.33	1.63	0.71	<.10
Latte ECM, kg	40.26	38.23	39.13	36.84	1.33	0.13	0.01
Latte/SSI, kg	1.40	1.54	1.91	1.64	0.18	<.05	0.64
Latte ECM/SSI, kg	1.48	1.60	1.92	1.68	0.17	0.05	0.63

Tabella 29. Risultati relativi ai parametri qualitativi del latte.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs20	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
Grasso, %	3.82	3.62	3.58	3.60	0.18	0.31	0.46
Proteine, %	3.38	3.38	3.42	3.31	0.11	0.74	0.34
Lattosio, %	4.88	4.88	4.80	4.79	0.05	<.05	0.94
Urea, mg/dl	14.68	15.42	15.30	15.53	1.36	0.72	0.65
C.S., Log ¹	2.39	3.49	3.38	4.00	0.80	<.10	<.05

¹Il contenuto in cellule somatiche è stato espresso in base logaritmica 10 (Lacy-Hulbert *et al.*, 1999).

DIGERIBILITÀ DELLA FIBRA

In Tabella 30 sono riportati i valori di digeribilità della fibra. Dai risultati ottenuti non appaiono differenze per questo parametro che, mediamente, si è attestato su valori superiori al 75 % in tutte le diete ed in linea con i dati ottenuti in altre sperimentazioni, confermando la digeribilità (TTD) mostrata da Fustini *et al.* (2017), data la qualità dei foraggi utilizzati nelle diete Parmigiano Reggiano (Palmonari *et al.*, 2016). Dai dati ottenuti in questa sperimentazione si può desumere che la capacità di trattenere la fibra nel rumine da parte delle bovine appare molto elevata anche quando la disponibilità di cibo non sia costante e non ci sia la presenza di foraggio lungo a disposizione. I risultati relativi a questo parametro dimostrano ancora una volta quanto elevata sia la capacità adattativa del bovino.

Tabella 30. Frazioni fibrose delle feci e stima della digeribilità della fibra.

Parametro	Disponibilità				SEM	24vs20	F+vsF-
	24h		19h				
	F+	F-	F+	F-			
aNDFom, %SS	60.42	60.15	60.14	60.38	0.48	0.92	0.95
uNDFom 240h, %SS	32.21	31.99	32.48	31.69	0.83	0.97	0.21
pdNDF %SS	28.20	28.17	27.66	28.69	1.03	0.98	0.34
Digeribilità aNDFom, %	59.64	60.21	59.54	59.76	1.08	0.58	0.42
TTD ¹ , %pdNDF	75.90	76.30	76.10	75.69	1.37	0.76	0.99

¹ TTD: Total Tract Digestibility

VALUTAZIONE DEL CAMBIO DI REGIME ALIMENTARE: AD LIBITUM VS RISTRETTO

Un focus importante che ha avuto questa ricerca è stato quello di studiare gli effetti del cambio di regime alimentare sui parametri comportamentali, fisiologici e produttivi di queste bovine nel momento in cui è stata cambiata loro la dieta. In particolare, è stato preso in esame solo il cambio da una dieta *ad libitum* ad una ristretta e viceversa, indipendentemente dalla presenza o meno di fieno lungo; questo in base a quanto emerso dai dati ottenuti dalla parte precedente della sperimentazione, in cui la supplementazione di fieno lungo non ha modificato sensibilmente il comportamento alimentare. I giorni considerati sono stati i due giorni precedenti al cambio (-2, -1), il giorno del cambio (0) e i due giorni successivi (+1, +2).

ASSUNZIONE DI ALIMENTO, ABBEVERATA, PESO VIVO E COMPORTAMENTO ALIMENTARE

In Tabella 31 e 32 sono riportate le medie giornaliere dell'ingestione, dell'abbeverata e del peso vivo (PV). Dai dati emerge che, quando è stato eseguito il cambio da *ad libitum* a ristretto, la SSI è diminuita significativamente di oltre 8 kg ($P < 0.01$, Tabella 31). Tuttavia, quando le bovine sono passate dal regime alimentare di restrizione a quello a volontà, la SSI non ha subito modificazioni (Tabella 32). Guardando la suddivisione oraria di SSI si può osservare un incremento dell'ingestione nelle prime ore dopo la distribuzione del nuovo alimento, quando gli animali sono stati messi in regime di restrizione (h 20:00; Tabella 33, 34; Figura 25, 26). Questo incremento è risultato significativo per il passaggio da *ad libitum* a ristretto ($P < 0.05$) (Tabella 33) e molto significativo il decremento in intake dopo la nuova distribuzione nel passaggio da ristretto a *ad libitum*. Questo fatto si riflette nel cambiamento della distribuzione dei pasti durante la giornata. Osservando le Figure 25 e 26 si può notare come, durante l'alimentazione *ad libitum* dopo la mungitura delle 20, le vacche mangino tra i 2-3 kg di SS in un primo grande pasto. Tuttavia, dopo il cambiamento, ossia dopo la restrizione per 5 ore, l'entità del pasto è cresciuta fino a 5 kg. Tutte le vacche, indipendentemente dal tipo di somministrazione, hanno effettuato durante la sperimentazione tra i 7 e i 9 pasti giornalieri in media (Figura 25, 26). Durante il periodo di restrizione (dalle 15:00 alle 20:00) le vacche appartenenti al gruppo *ad libitum* in quel frangente temporale hanno consumato più di 5 kg di unifeed. L'assunzione di acqua di abbeverata e il peso sono stati gli stessi in tutti i periodi.

Tabella 31. Effetto del cambio da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione in assunzione di alimento e abbeverata e peso vivo (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio 0	Restrizione				
	-2	-1		1	2			
SSI, kg	27.10 ^A	28.96 ^A	21.14 ^B	24.04 ^{AB}	24.14 ^{AB}	1.82	<.01	
Abbeverata, kg	174.25	174.75	159.75	158.63	169.63	14.84	<.10	
PV, kg	618.63	620.88	621.50	627.36	625.22	20.45	0.92	

Tabella 32. Effetto del cambio da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* in assunzione di alimento e abbeverata e peso vivo (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	Restrizione		Cambio 0	<i>Ad Libitum</i>				
	-2	-1		1	2			
SSI, kg	26.60	24.44	27.31	26.71	26.10	1.39	0.60	
Abbeverata, kg	173.00	170.17	182.17	181.33	175.50	8.74	0.42	
PV, kg	650.00	645.33	644.00	641.50	641.67	24.52	0.88	

Tabella 33. Effetto del cambio da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione sulla SSI (pattern giornalieri).

SSI, kg/h	Giorni dal cambio					SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio	Ristretto			
	-2	-1	0	1	2		
Mung. - 20:59	2.94 ^{ab}	3.47 ^{ab}	2.19 ^b	5.11 ^a	4.60 ^{ab}	0.72	<.05
21 - 21:59	0.72	0.90	1.16	1.49	1.61	0.37	0.20
22 - 22:59	0.96	1.27	0.36	1.63	1.53	0.47	0.17
23 - 23:59	1.52	1.25	1.16	1.83	1.17	0.37	0.68
00 - 00:59	1.53	1.14	0.89	0.25	0.78	0.33	0.16
1 - 1:59	0.80	0.78	1.58	1.19	1.46	0.31	<.10
2 - 2:59	0.68	0.99	0.29	0.60	0.47	0.24	0.33
3 - 3:59	0.01 ^b	0.29 ^{ab}	0.44 ^{ab}	0.54 ^{ab}	1.03 ^a	0.20	<.05
4 - 4:59	0.19	1.07	0.00	0.03	0.68	0.34	0.08
5 - 5:59	1.38	1.45	1.40	1.11	0.79	0.50	0.74
6 - 6:59	1.17	1.99	1.34	1.25	1.44	0.47	0.63
7 - 7:59	1.80	1.14	2.47	1.24	1.43	0.36	<.10
8 - 8:59	1.00	1.49	0.93	1.83	1.00	0.38	0.30
9 - 9:59	0.85	1.14	1.28	0.68	0.67	0.38	0.66
10 - 10:59	1.87	1.12	1.02	1.28	1.51	0.35	0.35
11 - 11:59	0.87	0.73	0.89	0.85	0.67	0.25	0.97
12 - 12:59	1.17	0.93	0.67	1.21	1.11	0.37	0.65
13 - 13:59	1.04	1.65	1.20	1.24	0.91	0.35	0.63
14 - 14:59	1.05	0.84	1.90	0.68	1.78	0.38	<.10
15 - 15:59	1.06 ^A	1.34 ^A	0.00 ^B	0.00 ^B	0.00 ^B	0.31	<.01
16 - 16:59	1.32 ^A	1.71 ^A	0.00 ^B	0.00 ^B	0.00 ^B	0.31	<.01
17 - 17:59	1.18 ^A	1.09 ^A	0.00 ^B	0.00 ^B	0.00 ^B	0.22	<.01
18 - Mungitura	1.50 ^A	1.18 ^A	0.00 ^B	0.00 ^B	0.00 ^B	0.28	<.01

Tabella 34. Effetto del cambio da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* sulla SSI (pattern giornalieri).

SSI, kg/h	Giorni dal cambio					SEM	P
	Ristretto		Cambio	<i>Ad Libitum</i>			
	-2	-1	0	1	2		
Mung. - 20:59	4.87 ^A	5.09 ^A	3.64 ^A	1.53 ^B	1.74 ^B	0.63	<.01
21 - 21:59	0.79	0.89	0.22	1.56	0.65	0.38	0.10
22 - 22:59	1.00	1.10	1.25	0.47	0.95	0.38	0.70
23 - 23:59	1.30	0.67	0.89	0.69	0.67	0.41	0.68
00 - 00:59	0.50	0.70	0.96	1.81	0.67	0.30	0.05
1 - 1:59	1.47	0.53	0.37	0.21	1.32	0.37	0.08
2 - 2:59	1.03	0.60	1.32	0.67	0.53	0.38	0.59
3 - 3:59	0.13	0.19	0.46	0.19	0.08	0.18	0.66
4 - 4:59	0.03	0.79	0.28	0.30	0.12	0.15	0.24
5 - 5:59	1.85	0.76	1.25	0.84	1.12	0.39	0.25
6 - 6:59	1.33	2.47	1.94	2.85	2.13	0.51	0.32
7 - 7:59	1.55	1.14	1.66	0.92	1.65	0.39	0.55
8 - 8:59	2.32	1.49	1.22	1.52	1.53	0.37	0.13
9 - 9:59	0.67	1.92	0.84	0.27	0.58	0.43	0.10
10 - 10:59	0.99	0.88	0.40	1.52	1.12	0.38	0.18
11 - 11:59	1.87	0.24	1.70	1.82	0.86	0.49	0.13
12 - 12:59	1.08	2.04	0.85	1.18	1.62	0.46	0.50
13 - 13:59	1.16	0.84	1.67	1.17	0.90	0.54	0.77
14 - 14:59	2.47	1.98	1.34	1.08	2.43	0.47	0.17
15 - 15:59	0.00 ^C	0.00 ^C	2.32 ^{AB}	2.43 ^A	1.14 ^{BC}	0.31	<.01
16 - 16:59	0.00 ^C	0.00 ^C	0.54 ^B	1.18 ^A	0.50 ^B	0.18	<.01
17 - 17:59	0.00 ^b	0.00 ^b	1.17 ^{ab}	1.03 ^{ab}	2.08 ^a	0.35	<.05
18 - Mungitura	0.00 ^B	0.00 ^B	1.04 ^{AB}	1.49 ^A	1.72 ^A	0.26	<.01

Figura 25. Pattern dell'ingestione di SS durante il cambio da *ad libitum* a ristretto.

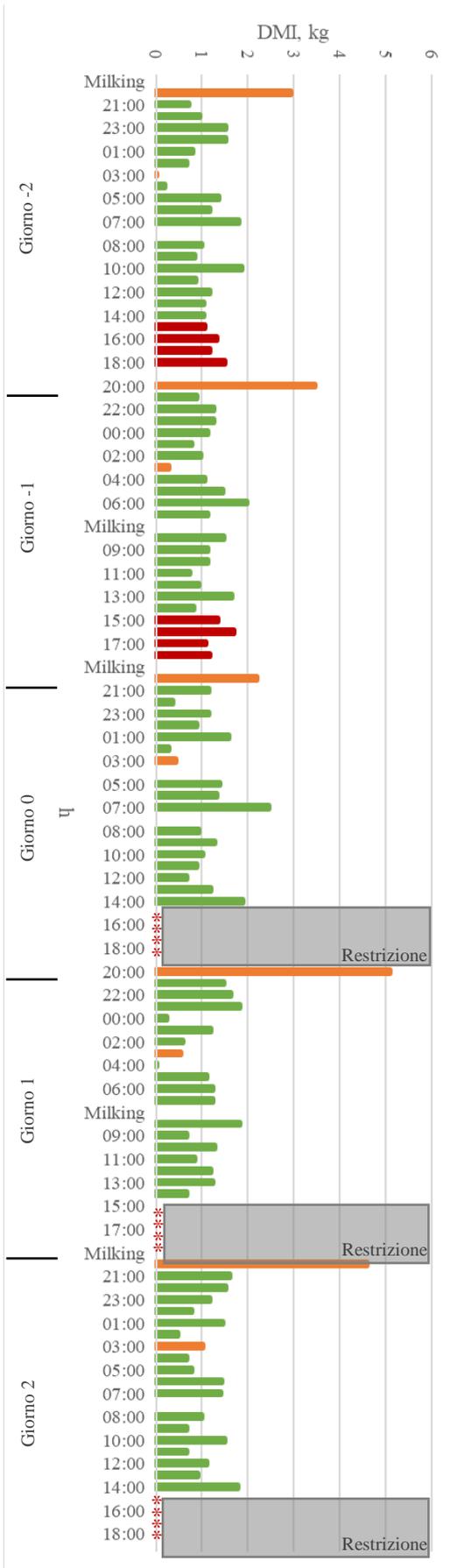
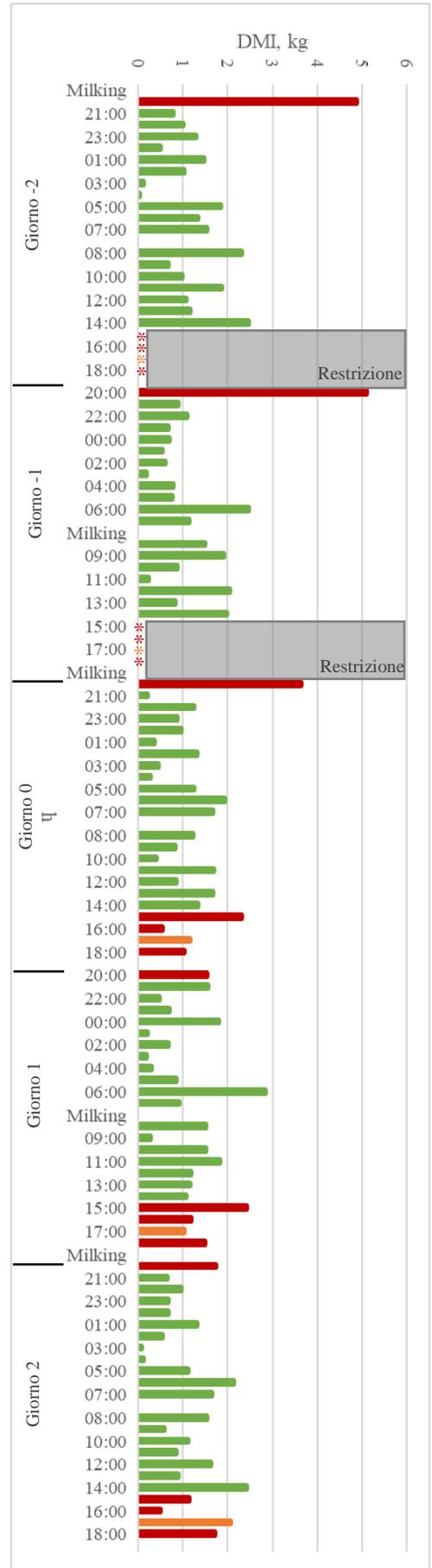


Figura 26. Pattern dell'ingestione di SS durante il cambio da ristretto a *ad libitum*.



■ P < .05
 ■ P < .01

TEMPI DI RUMINAZIONE E PATTERN GIORNALIERO

In Tabella 35 e 36 sono riportate le medie giornaliere della ruminazione e ruminazione/SSI. Il tempo di ruminazione durante il cambio di regime alimentare è differito significativamente, anche se c'è stata una tendenza a ruminare maggiormente nella tesi *ad libitum* (Tabella 36), che in valore assoluto è stato il regime con le migliori condizioni in termini di tempo di ruminazione. Va sottolineato, però, che nella fase di campionamento analizzata nella valutazione precedente della prova sperimentale (settimana sperimentale, Tabella 21) i valori di ruminazione non differiscono, se non per il gruppo ristretto senza fieno a disposizione. La tendenza all'aumento registrato nel cambio dal regime di restrizione a quello *ad libitum* (Tabella 36) può essere dunque secondaria ad una migliore situazione globale in cui si sono trovate le bovine nel ricevere unifeed *ad libitum*. Attraverso il calcolo dei minuti di ruminazione per kg di SSI si può vedere come il passaggio dal regime *ad libitum* a quello ristretto ($P < 0.05$, Tabella 35) abbia determinato un aumento dei minuti, fatto secondario all'aumento dell'ingestione di sostanza secca. Osservando, invece, la ruminazione per intervallo orario è possibile notare una sostanziale modificazione del comportamento ruminativo; le bovine hanno ruminato meno durante le prime ore dopo la distribuzione del nuovo alimento (ore 20:00) nella gestione ristretta (Tabella 37) a causa del maggior tempo impiegato ad alimentarsi rispetto a quello trascorso a riposare e ruminare. Durante il periodo in cui l'unifeed non è stato disponibile (dalle 15:00 alle 20:00), le vacche ristrette hanno ruminato di più rispetto al regime *ad libitum*; questa differenza è stata significativa nel passaggio dal regime *ad libitum* a quello ristretto ($P < 0.05$), ma non significativa quando il passaggio è stato da ristretto a volontà (Tabella 37, 38). Le Figure 27 e 28 fanno riferimento al pattern giornaliero di ruminazione. Nella Figura 27, dopo il cambio ad un regime di restrizione, si vedono modificazioni nel comportamento ruminativo; infatti le vacche alimentate *ad libitum* hanno ruminato maggiormente durante la notte (h 00:00 - 04:00), mentre quelle ristrette hanno mostrato un pattern bimodale di ruminazione, con picchi durante la notte e durante il periodo di restrizione (ore 15:00 - 18:00), dati che confermano le valutazioni fatte precedentemente (Figura 18). Nella Figura 28 sono stati confermati i dati riferiti al cambio da ristretto a volontà. In questo caso è possibile notare anche un incremento di ruminazione nelle ore 20:00 – 22:00 dopo il cambio *ad libitum* ($P < 0.01$). Questo conferma che le vacche hanno passato meno tempo a mangiare dopo la distribuzione del nuovo alimento, utilizzandolo per ruminare e riposare.

Tabella 35. Effetto dell'adattamento da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio	Restrizione				
	-2	-1		1	2			
Ruminazione, min	403.38	436.25	402.50	383.63	411.50	31.71	0.15	
Rum/SSI, min/kg	15.10 ^c	15.35 ^{bc}	19.25 ^a	16.75 ^{abc}	18.38 ^{ab}	1.69	<.05	

Tabella 36. Effetto dell'adattamento da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	Restrizione		Cambio	<i>Ad Libitum</i>				
	-2	-1		1	2			
Ruminazione, min	436.33	436.83	443.33	474.50	473.33	41.18	<.10	
Rum/SSI, min/kg	16.55	17.81	17.33	17.78	18.13	1.85	0.84	

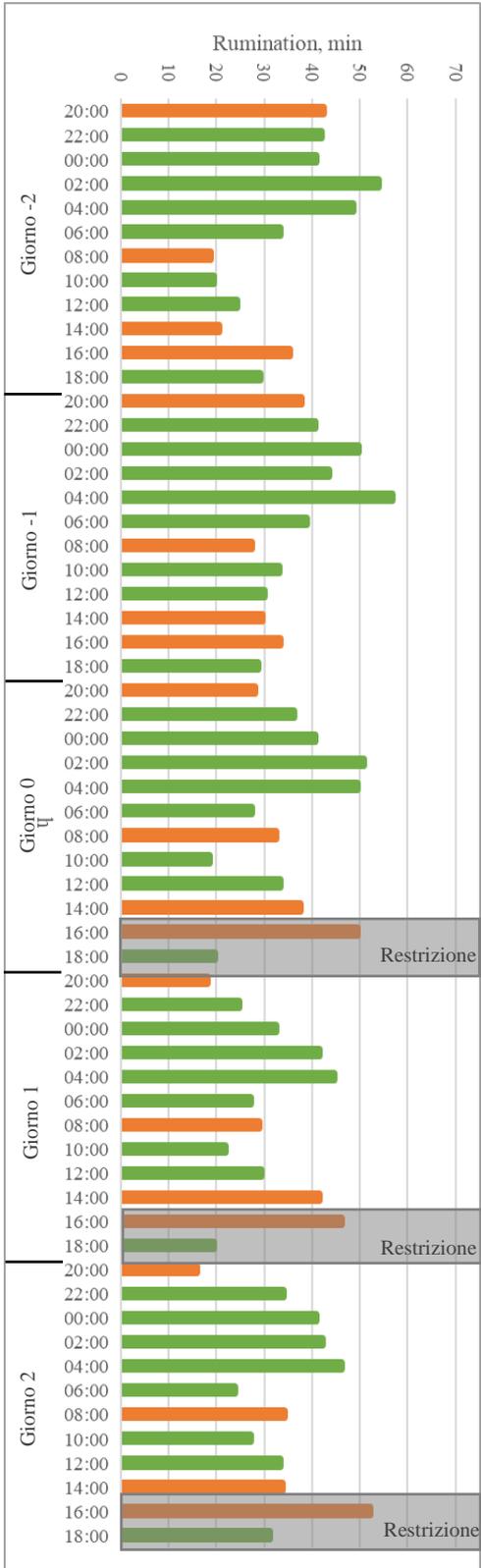
Tabella 37. Effetto dell'adattamento da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione sulla ruminazione (pattern giornalieri).

Ruminazione, min/h	Giorni dal cambio					SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio 0	Ristretto			
	-2	-1		1	2		
20:00-21:59	42.38 ^a	37.75 ^a	28.00 ^{ab}	18.13 ^b	16.00 ^b	6.44	<.05
22:00-23:59	42.13	40.75	36.25	24.75	34.00	6.07	0.31
00:00-01:59	40.88	49.75	40.63	32.63	40.88	5.59	0.32
02:00-03:59	54.00	43.63	50.88	41.63	42.25	6.92	0.44
04:00-05:59	48.75	56.75	49.50	44.63	46.13	5.51	0.63
06:00-07:59	33.38	39.00	27.38	27.25	24.00	5.36	0.28
08:00-09:59	18.88 ^b	27.50 ^{ab}	32.50 ^{ab}	29.00 ^{ab}	34.38 ^a	5.78	<.05
10:00-11:59	19.50	33.25	18.63	21.88	27.25	5.65	0.29
12:00-13:59	24.38	30.13	33.38	29.38	33.50	5.47	0.69
14:00-15:59	20.50 ^b	29.75 ^{ab}	37.63 ^{ab}	41.50 ^a	33.75 ^{ab}	7.26	<.05
16:00-17:59	35.38 ^{bc}	33.38 ^c	49.50 ^{ab}	46.25 ^{abc}	52.13 ^a	6.24	<.05
18:00-19:59	29.25	28.88	19.63	19.50	31.13	5.01	0.12

Tabella 38. Effetto dell'adattamento da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* sulla ruminazione (pattern giornalieri).

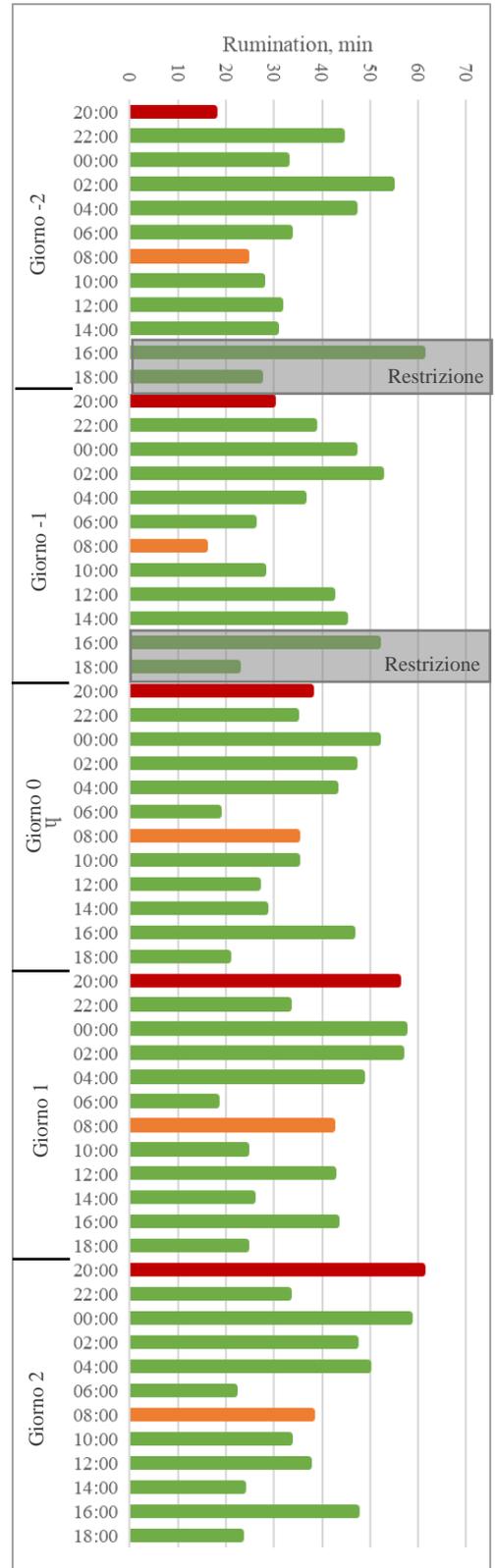
Ruminazione, min/h	Giorni dal cambio					SEM	P
	Ristretto		Cambio 0	<i>Ad Libitum</i>			
	-2	-1		1	2		
20:00-21:59	17.67 ^B	29.67 ^B	37.67 ^{AB}	55.67 ^A	60.83 ^A	5.52	<.01
22:00-23:59	44.17	38.33	34.50	33.00	33.00	7.48	0.71
00:00-01:59	32.67	46.67	51.50	57.17	58.17	6.52	0.11
02:00-03:59	54.50	52.17	46.67	56.50	47.00	9.07	0.74
04:00-05:59	46.83	36.17	42.83	48.17	49.67	8.61	0.70
06:00-07:59	33.17	25.83	18.50	18.00	21.83	6.61	0.60
08:00-09:59	24.17 ^{ab}	15.50 ^b	34.83 ^{ab}	42.00 ^a	38.00 ^a	9.01	<.05
10:00-11:59	27.50	27.67	34.83	24.17	33.33	8.19	0.79
12:00-13:59	31.33	42.17	26.67	42.33	37.33	6.80	0.33
14:00-15:59	30.33	44.67	28.17	25.50	23.50	6.64	0.26
16:00-17:59	60.83	51.50	46.33	43.00	47.17	6.42	0.10
18:00-19:59	27.00	22.33	20.50	24.17	23.00	6.04	0.76

Grafico 27. Pattern della ruminazione durante il cambio da *ad libitum* a ristretto.



■ P < .05
■ P < .01

Grafico 28. Pattern della ruminazione durante il cambio da ristretto a *ad libitum*.



PH RETICOLO-RUMINALE E PATTERN GIORNALIERO

Il pH reticolo-ruminale si è mantenuto su valori fisiologici anche in questa fase della sperimentazione. Il pH giornaliero medio è aumentato durante i giorni in cui le vacche si sono alimentate di meno, risultati aspettati e sintomo di una minore quota di substrati ruminali per le fermentazioni. Questi dati sono confermati anche da un minor numero di minuti sotto la soglia di 5.8 e 5.5 negli stessi giorni (Tabella 39 e 40). Valutando l'evoluzione del pH nel corso della giornata, possiamo notare che, dopo il razionamento dell'unifeed, c'è stato un incremento di pH durante le ore della giornata in cui vi era restrizione alimentare (Tabella 41). Questo significa che l'incremento di pH è iniziato circa un'ora dopo la restrizione (ore 16:00) fino ad un'ora dopo la distribuzione del nuovo alimento (h 20:00), tempo necessario alla mucosa ruminale per assorbire gli ultimi AGV prodotti e tempo intercorso prima che le nuove fermentazioni ripartano. Dati confermati nel momento del cambio da una dieta ristretta ad una *ad libitum* (Tabella 42). Le Figure 29 e 30 mostrano l'andamento del pH durante le giornate. Nella Figura 29 è possibile notare come nelle diete *ad libitum* il massimo giornaliero di pH si registri al mattino presto (ore 05:00), mentre passando al regime di restrizione si continua a vedere un incremento di pH il mattino presto, ma il valore massimo viene raggiunto alla fine del periodo di restrizione (ore 18:00-19:00). Questo fatto dimostra come diminuendo l'ingestione di alimento si deprimano le fermentazioni ruminali o, per meglio dire, reticolo-ruminali, e come pure ci sia un possibile effetto sulla contrattilità del rumine con conseguente minor flusso di liquor in uscita, che determina un incremento del pH. Il pH minimo è stato raggiunto nel tardo pomeriggio, per la tesi *ad libitum* (ore 19:00) e di notte verso le 23:00 per la tesi ristretta. Queste differenze nel decorso del pH giornaliero sono probabilmente state causate dalle forti fermentazioni e dall'elevata contrattilità successive al grande pasto dopo la distribuzione del nuovo alimento (ore 20:00). Osservando la Figura 30 prima del cambio si continua ad osservare un doppio picco massimale durante il giorno, il primo il mattino presto (ore 05:00), il secondo in corrispondenza della fine del periodo di restrizione (ore 19:00). Successivamente al cambio dal regime di restrizione a quello *ad libitum* (giorno 0), il pattern è ritornato sovrapponibile a quello osservato nelle situazioni precedenti al regime *ad libitum*.

Tabella 39. Effetto dell'adattamento da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione nel pH reticolo ruminale (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio	Restrizione				
	-2	-1		1	2			
pH medio giornaliero	6.07 ^b	6.10 ^{ab}	6.17 ^a	6.12 ^{ab}	6.08 ^{ab}	0.11	<.05	
pH < 5.8, min/gg	320.00	275.00	153.33	261.67	360.00	163.09	0.16	
pH < 5.5, min/gg	25.00	1.67	0.00	5.00	16.67	11.23	0.31	

Tabella 40. Effetto dell'adattamento da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* nel pH reticolo ruminale (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	Restrizione		Cambio	<i>Ad Libitum</i>				
	-2	-1		1	2			
pH medio giornaliero	6.12 ^b	6.16 ^{ab}	6.11 ^b	6.13 ^b	6.20 ^a	0.11	<.05	
pH < 5.8, min/gg	196.67	220.00	223.33	221.67	181.67	163.05	0.57	
pH < 5.5, min/gg	3.33	0.00	1.67	0.00	3.33	10.66	0.45	

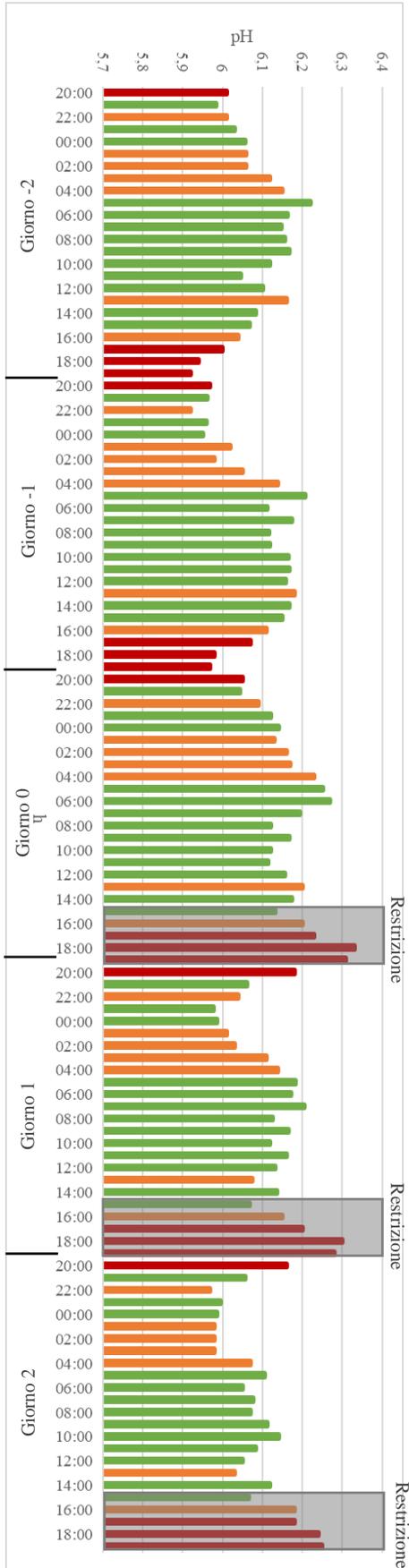
Tabella 41. Effetto dell'adattamento da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione sul pH (pattern giornalieri).

pH	Giorni dal cambio					SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio	Ristretto			
	-2	-1	0	1	2		
20 - 20:59	6.01 ^{BC}	5.97 ^C	6.05 ^{ABC}	6.18 ^A	6.16 ^{AB}	0.12	<.01
21 - 21:59	5.98	5.96	6.04	6.06	6.06	0.14	0.30
22 - 22:59	6.01 ^{ab}	5.92 ^b	6.09 ^a	6.04 ^{ab}	5.97 ^{ab}	0.12	<.05
23 - 23:59	6.03	5.96	6.12	5.98	6.00	0.12	0.10
00 - 00:59	6.06	5.95	6.14	5.99	5.99	0.12	<.10
1 - 1:59	6.06 ^{ab}	6.02 ^{ab}	6.13 ^a	6.01 ^{ab}	5.98 ^b	0.12	<.05
2 - 2:59	6.06 ^{ab}	5.98 ^b	6.16 ^a	6.03 ^{ab}	5.98 ^b	0.12	<.05
3 - 3:59	6.12 ^{ab}	6.05 ^{ab}	6.17 ^a	6.11 ^{ab}	5.98 ^b	0.12	<.05
4 - 4:59	6.15 ^{ab}	6.14 ^{ab}	6.23 ^a	6.14 ^{ab}	6.07 ^b	0.12	<.05
5 - 5:59	6.22	6.21	6.25	6.18	6.11	0.12	0.30
6 - 6:59	6.16	6.11	6.27	6.17	6.05	0.12	<.10
7 - 7:59	6.15	6.17	6.19	6.21	6.08	0.11	0.12
8 - 8:59	6.16	6.12	6.12	6.13	6.07	0.11	0.65
9 - 9:59	6.17	6.12	6.17	6.17	6.11	0.11	0.53
10 - 10:59	6.12	6.17	6.12	6.12	6.14	0.10	0.95
11 - 11:59	6.05	6.17	6.12	6.16	6.08	0.12	<.10
12 - 12:59	6.10	6.16	6.16	6.13	6.05	0.12	0.21
13 - 13:59	6.16 ^{ab}	6.18 ^{ab}	6.20 ^a	6.08 ^{bc}	6.03 ^c	0.12	<.05
14 - 14:59	6.08	6.17	6.17	6.14	6.12	0.13	0.33
15 - 15:59	6.07	6.15	6.13	6.07	6.07	0.13	0.38
16 - 16:59	6.04 ^b	6.11 ^{ab}	6.20 ^a	6.15 ^{ab}	6.18 ^{ab}	0.14	<.05
17 - 17:59	6.00 ^C	6.07 ^{BC}	6.23 ^A	6.20 ^{AB}	6.18 ^{AB}	0.13	<.01
18 - 18:59	5.94 ^B	5.98 ^B	6.33 ^A	6.30 ^A	6.24 ^A	0.13	<.01
19 - 19:59	5.92 ^B	5.97 ^B	6.31 ^A	6.28 ^A	6.25 ^A	0.13	<.01

Tabella 42. Effetto dell'adattamento da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* sul pH (pattern giornalieri).

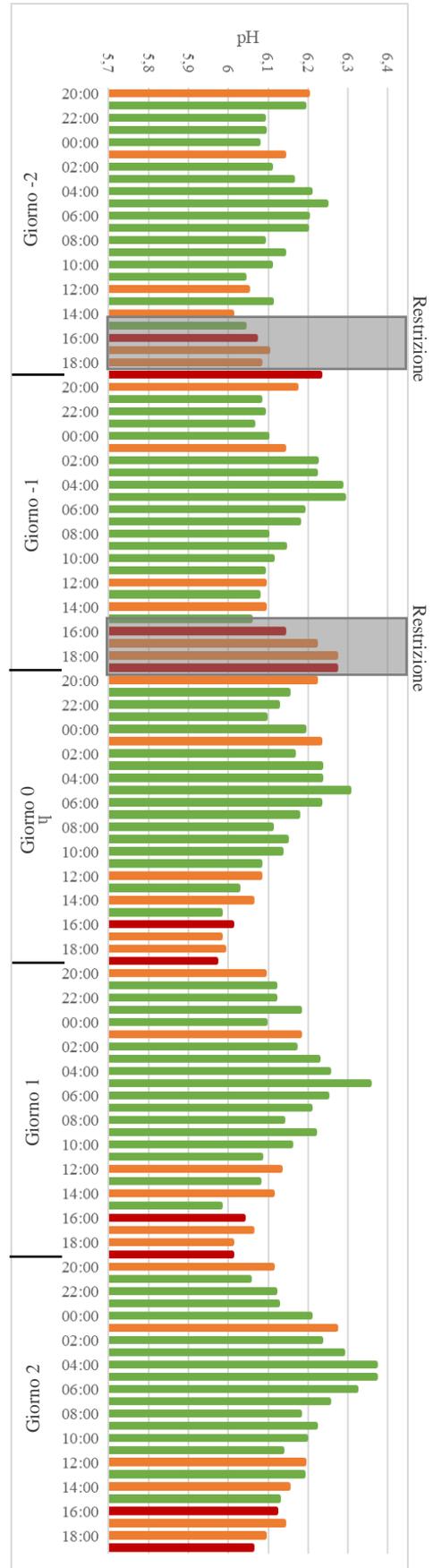
pH	Giorni dal cambio					SEM	P
	Ristretto		Cambio	<i>Ad Libitum</i>			
	-2	-1	0	1	2		
20 - 20:59	6.20 ^{ab}	6.17 ^{ab}	6.22 ^a	6.09 ^b	6.11 ^b	0.09	<.05
21 - 21:59	6.19	6.08	6.15	6.12	6.05	0.10	<.10
22 - 22:59	6.09	6.09	6.13	6.12	6.12	0.11	0.94
23 - 23:59	6.09	6.06	6.09	6.18	6.12	0.10	0.16
00 - 00:59	6.08	6.10	6.19	6.09	6.21	0.11	0.24
1 - 1:59	6.14 ^b	6.14 ^b	6.23 ^{ab}	6.18 ^{ab}	6.27 ^a	0.11	<.05
2 - 2:59	6.11	6.22	6.16	6.17	6.23	0.11	<.10
3 - 3:59	6.16	6.22	6.23	6.23	6.29	0.10	0.15
4 - 4:59	6.21	6.28	6.23	6.25	6.37	0.11	<.10
5 - 5:59	6.25	6.29	6.30	6.35	6.37	0.11	0.37
6 - 6:59	6.20	6.19	6.23	6.25	6.32	0.12	<.10
7 - 7:59	6.20	6.18	6.18	6.21	6.25	0.12	0.61
8 - 8:59	6.09	6.10	6.11	6.14	6.18	0.12	0.13
9 - 9:59	6.14	6.14	6.15	6.22	6.22	0.11	<.10
10 - 10:59	6.11	6.11	6.13	6.16	6.20	0.13	0.56
11 - 11:59	6.04	6.09	6.08	6.08	6.14	0.11	0.16
12 - 12:59	6.05 ^{ab}	6.09 ^{ab}	6.08 ^b	6.13 ^{ab}	6.19 ^a	0.11	<.05
13 - 13:59	6.11	6.08	6.03	6.08	6.19	0.10	0.13
14 - 14:59	6.01 ^c	6.09 ^{ab}	6.06 ^{bc}	6.11 ^{abc}	6.15 ^a	0.11	<.05
15 - 15:59	6.04	6.06	5.98	5.98	6.13	0.11	0.31
16 - 16:59	6.07 ^{BCD}	6.14 ^A	6.01 ^{CD}	6.04 ^C	6.12 ^{AB}	0.12	<.01
17 - 17:59	6.10 ^{ab}	6.22 ^a	5.98 ^b	6.06 ^{ab}	6.14 ^{ab}	0.12	<.05
18 - 18:59	6.08 ^{ab}	6.27 ^a	5.99 ^b	6.01 ^b	6.09 ^{ab}	0.11	<.05
19 - 19:59	6.23 ^A	6.27 ^A	5.97 ^B	6.01 ^B	6.06 ^B	0.11	<.01

Figura 29. Pattern del pH durante il cambio da *ad libitum* a ristretto.



■ P < .05
■ P < .01

Figura 30. Pattern del pH durante il cambio da ristretto a *ad libitum*.



PRODUZIONE DI LATTE

La produzione di latte è stata stabile senza mostrare cambiamenti significativi (Tabella 43 e 44). Tuttavia, calcolando l'efficienza alimentare (latte prodotto/SSI) nel cambio da *ad libitum* a ristretto, quest'ultima ha registrato un incremento ($P < 0.05$) grazie ad una diminuzione dell'assunzione di SS a fronte di una produzione costante di latte (Tabella 43).

Tabella 43. Effetto dell'adattamento da un regime *ad libitum* ad uno di restrizione (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	<i>Ad Libitum</i>		Cambio	Restrizione				
	-2	-1		1	2			
Latte, kg	38.39	38.30	38.09	35.89	38.23	1.49	0.49	
Latte/SSI, kg	1.48 ^{AB}	1.38 ^B	1.85 ^A	1.60 ^{AB}	1.69 ^{AB}	0.15	<.05	

Tabella 44. Effetto dell'adattamento da un regime di restrizione ad uno *ad libitum* (dati medi giornalieri).

Parametro	Giorni dal cambio						SEM	P
	Restrizione		Cambio	<i>Ad Libitum</i>				
	-2	-1		1	2			
Latte, kg	40.17	40.90	38.82	42.58	40.88	1.70	0.24	
Latte/SSI, kg	1.52	1.67	1.52	1.60	1.58	0.11	0.76	

2.2.5 CONCLUSIONI

I risultati ottenuti in questo studio mostrano come bovine in condizione di stabulazione fissa e adattate ad un regime alimentare, che sia esso *ad libitum* o razione, mostrano minime differenze produttive. È stato evidenziato che la somministrazione di unifeed a volontà con la presenza di fieno offre le condizioni di migliore stabilità della funzione ruminativa e del pH del rumine. A nostra conoscenza questa è la prima prova condotta nelle vacche in lattazione che abbia ridotto per un considerevole arco di tempo la disponibilità di unifeed in mangiatoia. Inoltre, la presenza di fieno lungo durante la restrizione alimentare offre le migliori condizioni ruminali e tende a migliorare le produzioni latte.

Restringendo per cinque ore l'accesso all'alimento non si sono riscontrate differenze significative nel tempo di ruminazione e nel pH medio della giornata, mentre è migliorata l'efficienza di conversione della dieta in latte. Il miglior indice di conversione è dovuto ad una riduzione modica dell'ingestione a fronte di una uguale produzione di latte; il miglioramento dell'efficienza di conversione dell'alimento in latte che è stato riscontrato anche in altre classi di ruminanti (Zanton e Heinrichs, 2008). Questi risultati senza dubbio devono essere confermati da studi di più lunga durata e che si concentrino su vacche in fase centrale di lattazione. Un disegno sperimentale a quadrato latino di 21 giorni per periodo potrebbe avere un effetto trascinato nell'energia stoccata e sulle mobilitazioni delle riserve corporee, il che potrebbe nascondere effetti di bilancio energetico negativo durante la restrizione. Tuttavia, in questa sperimentazione non è stata rilevata alcuna variazione nel peso vivo. Questo sistema di alimentazione potrebbe essere utilizzato come strategia per gestire la disponibilità di alimento in accordo con le produzioni e le condizioni metaboliche, al fine di massimizzare l'utilizzo dei nutrienti riducendo il costo di produzione del latte e mantenendo il benessere animale e la sua salute.

Le razioni fornite in questa sperimentazione non hanno mai indotto valori di pH da considerarsi pericolosi; quindi si può trarre l'indicazione che le quantità, la granulometria e il tipo di foraggi utilizzati e la quantità di concentrati forniti siano stati adeguati a mantenere valori di pH ruminale medi e minimi in linea con quanto si ritiene ottimale per mantenere un buon habitat ruminale.

Gli animali con alimento razione hanno modificato il loro pattern di comportamento alimentare. Tali alterazioni si sono riflesse in modificazioni anche del comportamento ruminativo e del pH reticolo-ruminale. Considerando le due settimane di adattamento, le vacche si sono adattate al nuovo regime alimentare con assunzioni simili tra le tesi *ad libitum* e razione. Tale tempo di adattamento si è poi rilevato molto inferiore nello studio del periodo a cavallo dei cambi alimentari.

Nel periodo in assenza di unifeed (5 ore) le bovine hanno ruminato significativamente di più rispetto le stesse con unifeed. In questo periodo, essendo assente l'introduzione di nuovo alimento, quindi venendo meno i processi fermentativi e la produzione di nuovi acidi, si è registrato un concomitante rialzo del pH. A questa fase di restrizione è seguito un primo pasto, post distribuzione del nuovo alimento, che ha rappresentato più del 20% dell'ingestione giornaliera nel gruppo razione, a fronte di un valore di circa la metà per il gruppo

controllo. Possiamo ipotizzare che questo evento provochi un più rapido passaggio dell'alimento dal rumine, in particolare della frazione dei concentrati. L'andamento del pH si è modificato di conseguenza presentando un pattern bifasico, rispetto a quello monofasico nel regime *ad libitum*. Benchè il pattern del pH reticolo-ruminale si sia alterato, i range si sono mantenuti gli stessi risultando sicuri in entrambe le tesi. Maggiori ricerche sono senza dubbio necessarie su come queste alterazioni possano essere modulate ed utilizzate per migliorare le produzioni latte e la sua qualità.

Da sottolineare che la disponibilità a volontà di alimento per tutto l'arco della giornata in presenza di fieno lungo ha manifestato i migliori risultati produttivi espressi in termini di ECM e ha consentito di ottenere una dinamica digestiva e fermentativa decisamente più stabile nell'arco delle 24 ore.

In ogni caso per entrambe le diete non si sono mai raggiunti valori di pH da considerarsi a rischio di SARA; ciò testimonia che, allorquando gli apporti di fibra (in particolare quella da foraggi) siano corretti, il rischio di acidosi è molto contenuto anche in presenza di modalità di somministrazione non ottimali. Una conferma indiretta della buona condizione fermentativa del rumine è rappresentata dai dati relativi alla digeribilità della fibra che non si è differenziata in rapporto alle tesi sperimentali.

Lo studio del cambio da una dieta *ad libitum* ad una razionata e viceversa ha mostrato come le bovine da latte abbiano un'enorme capacità di adattamento. È possibile affermare che il cambiamento del comportamento alimentare, e di conseguenza di quello ruminativo e di pH, è stato pressochè immediato. Già il giorno successivo al cambiamento si sono registrati i medesimi valori e comportamenti che dopo le 2 settimane di adattamento. Questo porta ad affermare che, da un punto di vista comportamentale, e non dietetico, 2-3 giorni sono sufficienti ad adattare le bovine a diversi regimi di somministrazione dell'unifeed. Ciò è da leggere in un'ottica di stabulazione fissa e controllata, che esclude quindi ogni effetto competitivo e gerarchico.

Con questo studio si ha avuto la possibilità di capire meglio quali sono i meccanismi di regolazione e modulazione dei pattern alimentari e comportamentali, al fine di porre le basi per uno studio successivo in cui sono state applicate condizioni di rottura dell'omeostasi ruminale al fine di meglio comprendere i meccanismi che la regolano e controllano.

Infine, grazie alla raccolta di dati giornalieri relativi alla preparazione dell'unifeed, si è potuta valutare l'enorme variabilità presente nella preparazione dell'unifeed e nella qualità dei foraggi. Tali risultati mettono in luce la forte necessità di standardizzazione, nella pratica quotidiana, la preparazione dell'unifeed, al fine di ridurre il "fattore carrista" e l'esigenza di sviluppare nuovi sistemi di valutazione del processo di preparazione del carro e della qualità del prodotto finito, per offrire un alimento il più possibile costante nel tempo e con aspetti nutrizionali vicini a quelli teorici. A tal proposito nel futuro potrebbero essere implementate le strumentazioni dotate di tecnologia NIR da associare al carro unifeed.

2.3 PROVA 2: VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI E DELLA SUSCETTIBILITÀ INDIVIDUALE DI UN CHALLENGE NUTRIZIONALE E GESTIONALE IN BOVINE AD ELEVATA PRODUZIONE

2.3.1 FINALITÀ

L'obiettivo della prova è stato quello di studiare le variazioni dei parametri ruminali, comportamentali e le differenti suscettibilità di bovine lattifere ad alta produzione sottoposte ad un brusco cambio di dieta, passando da una dieta con un contenuto di concentrati usuale per la moderna zootecnia italiana ad una dieta eccessivamente spinta. Lo scopo è stato quello di ricreare una situazione limite che possa essere utilizzata per studiare le variazioni che avvengono nell'ecosistema ruminale, come monitorarle e quali indicazioni pratico-operative si possono trarre per migliorare la gestione quotidiana della mandria.

La modificazione della dieta è stata effettuata operando un incremento dei concentrati (mais fioccolato) e una diminuzione dei foraggi, andando così a modificare il rapporto foraggi:concentrati.

L'ipotesi è stata quella che un brusco incremento dei concentrati nella dieta porti ad un abbassamento del pH ruminale, con conseguenti episodi di acidosi ruminale subacuta, e che la somministrazione di fieno lungo abbia un effetto terapeutico nel ristabilire la salubrità del rumine.

Parte dei dati presentati in questa seconda prova sperimentale sono stati presentati con contributo orale nella conferenza ASPA 2019 e l'obiettivo ultimo è di pubblicarli in riviste referate.

2.3.2 MATERIALI E METODI

DISEGNO SPERIMENTALE

La sperimentazione è stata effettuata nell'azienda sperimentale dell'Università di Bologna le cui caratteristiche sono state precedentemente descritte.

La sperimentazione è stata condotta in due aree della struttura sperimentale: una prima fase a stabulazione libera ed una seconda fase nell'area dotata di otto poste fisse, precedentemente descritta. Sono stati coinvolti ventiquattro animali, suddivisi in tre gruppi di otto individui ciascuno, e l'intera prova ha avuto una durata di 56 giorni suddivisi in due periodi della durata di 28 giorni ciascuno. I tre gruppi di otto bovine si sono succeduti consecutivamente. Durante tutto il periodo si è proceduto alle rilevazioni e alla raccolta dei campioni. Le razioni unifeed o piatto unico utilizzate sono state due, una tipica dell'areale Parmigiano Reggiano, piatto corto e secco, normalmente in uso presso l'azienda sperimentale, ed una seconda razione acidogena con elevato tenore in concentrati. La razione normalmente utilizzata in azienda è definita tipo PR, era composta dal 45% di fibra e 55% di concentrati sulla sostanza secca ed è stata somministrata per un periodo di 4 settimane precedenti al periodo di "challenge" in cui si somministrava la dieta acidogena. La dieta di challenge (Acidogena) è stata formulata con un basso contenuto di foraggi (30% sulla S.S.) e un alto contenuto di amido (34 - 35% sulla S.S.) utilizzando alti livelli di fiocco laminato di mais. La dieta acidogena è stata somministrata per 4 settimane, definite periodo di "challenge".

Gli animali sono stati monitorati per tutto il periodo sperimentale per un totale di 56 giorni; nelle prime quattro settimane sono state monitorate le risposte fisiologiche e produttive degli animali in condizioni normali. Le bovine selezionate per la prova, mantenute a stabulazione libera insieme alle altre vacche in lattazione, assumevano la stessa dieta del resto della mandria. Dopo i 28 giorni di monitoraggio "pre-challenge" ogni gruppo da otto vacche è stato spostato dall'area a stabulazione libera all'area a poste fisse, per il miglior monitoraggio delle risposte fisiologico-produttive, e sono state alimentate con una dieta pro-acidogena per quattro settimane (Tabella 45). In totale, questo schema sperimentale è stato ripetuto per tre volte con tre gruppi diversi da otto animali, al fine di verificarne la ripetibilità ed ottenere un maggior numero di dati.

Tabella 45. Schema sperimentale adottato.

Pre-Challenge	Challenge
Stabulazione libera	Stabulazione fissa
Dieta Tipo PR	Dieta Acidogena

ANIMALI SELEZIONATI

Per la sperimentazione sono state selezionate 24 bovine primipare e pluripare in lattazione di razza Frisona, divise in 3 gruppi (blocchi), che sono stati reclutati in sperimentazione consecutivamente. All'inizio della fase sperimentale ogni gruppo è stato pareggiato per età (2.66 ± 0.59 , anni), numero di lattazioni (1.66 ± 0.65 , n°), giorni in lattazione (96.71 ± 19.73 , giorni), peso (636.53 ± 56.35 , kg), ruminazione (501.87 ± 78.87 , min) e produzione (42.40 ± 7.65 , kg). Le loro caratteristiche sono riportate in Tabella 46 e 47.

Tabella 46. Caratteristiche fisiologiche degli animali selezionati.

Gruppo	Vacca, numero	Età, anni	Lattazione, n°	Giorni, di	Peso, kg	Ruminazione, min/g
1	422	3.0	2	57	646	554
1	431	3.0	2	81	569	435
1	461	2.1	1	99	579	624
1	449	2.1	1	112	700	317
1	520	3.0	2	65	652	532
1	519	4.0	3	81	717	645
1	466	2.0	1	87	538	654
1	460	2.1	1	109	623	547
2	407	3.1	2	30	696	601
2	475	2.0	1	42	542	500
2	342	3.1	3	45	667	577
2	463	2.0	1	30	574	521
2	424	3.0	2	42	687	482
2	464	2.0	1	60	558	571
2	472	2.0	1	50	583	489
2	476	2.0	1	44	553	549
3	429	3.0	2	27	717	513
3	427	3.0	2	34	654	488
3	420	3.1	2	14	692	462
3	469	2.0	1	57	558	510
3	518	3.0	2	28	657	454
3	432	3.0	2	19	600	620
3	434	3.0	2	15	686	495
3	437	3.0	2	31	615	402

Tabella 47. Caratteristiche produttive degli animali selezionati.

Gruppo	Vacca, n°	Media Produzione	Grasso, %	Prot., %	Latt., %	Urea, mg/dl	SCC, linear score
1	422	51.5	3.58	3.54	4.99	9.90	10.49
1	431	37.6	3.61	3.13	5.23	13.00	9.64
1	461	32.3	3.39	3.10	5.06	11.20	12.75
1	449	33.4	3.64	3.13	5.02	11.50	10.78
1	520	50.0	4.39	3.06	4.81	11.10	10.57
1	519	44.1	3.05	3.01	5.06	10.10	12.02
1	466	39.6	3.39	3.19	4.92	12.10	10.97
1	460	33.0	3.06	3.25	5.15	10.10	10.78
2	407	57.7	4.36	3.31	5.01	11.40	9.32
2	475	39.8	3.58	2.93	5.10	16.50	10.64
2	342	35.1	3.96	2.83	4.92	22.00	10.85
2	463	35.0	4.81	3.23	4.92	24.70	11.45
2	424	51.3	3.44	3.14	5.14	15.10	9.64
2	464	40.1	3.90	3.16	5.18	21.00	10.13
2	472	30.1	3.70	3.51	4.97	14.90	12.51
2	476	29.9	3.77	3.18	5.02	15.20	13.50
3	429	46.7	4.64	3.13	5.12	27.60	11.18
3	427	41.7	3.89	3.32	4.92	22.30	12.20
3	420	36.5	4.21	3.55	5.03	23.20	12.55
3	469	37.9	2.98	2.92	4.90	19.20	11.61
3	518	49.9	3.44	3.35	4.71	25.40	13.06
3	432	46.0	4.37	3.88	4.66	22.60	13.75
3	434	42.1	5.08	3.52	4.88	27.80	12.86
3	437	34.0	5.29	3.37	4.84	29.00	10.85

DIETE SPERIMENTALI

Gli animali hanno subito un brusco cambio di dieta, passando repentinamente dalla dieta che normalmente assumevano, in cui il rapporto foraggi:concentrati era di 46:54, ad una dieta estrema al 25:75 di rapporto foraggi:concentrati. Le razioni sono state formulate utilizzando il software Dinamilk® (v5), basato sul modello CNCPS (v6). In Tabella 48 e 49 è riportata la composizione della razione e del mangime utilizzato.

Il fieno lungo, dai risultati dell'esperienza precedentemente descritta, era fornito *ad libitum* nella fase Pre-Challenge, mentre veniva somministrato solo se necessario nella fase di Challenge come intervento terapeutico, al fine di mitigare gli effetti estremi provocati dalla dieta Acidogena.

Tabella 48. Composizione delle razioni.

Alimento, kg/capo/giorno	Tipo PR	Acidogena
Fieno polifita finemente trinciato	9.5	6.0
Paglia di frumento	1.0	1.0
Fiocchi di mais	6.0	13.0
Mix lattazione	7.5	8.0
Melasso	1.0	1.0
Fieno di prato polifita lungo	<i>Ad Libitum</i>	Se necessario
Rapporto foraggi:concentrati	45.4:54.6	24.8:75.2

Tabella 49. Composizione del mangime (mix lattazione).

Composizione del mangime		
Crusca di grano tenero	%	29.70
Sorgo farina fine	%	29.50
Soia F.E. 44%	%	21.74
Soia integrale fioccata	%	14.80
Calcio carbonato	%	2.00
Sale	%	0.87
Magnesio ossido	%	0.35
Bentonite sodica	%	0.79
Integrazione (*)	%	0.25

(*) Gli apporti in oligoelementi e vitamine per kg di mangime erano:

Vitamine, provitamine e sostanze ad effetto analogo: vitamina A prot, E672 U.I. 40000; vitamina D3, E671 U.I. 4000; vitamina E α -tocoferolo 92% prot. Mg 30; vitamina B1 mg 5; vitamina B2 mg 3; vitamina B6 mg 1.5; vitamina B12 mg 0.06; vitamina K mg 5; vitamina H1 mg 5; vitamina PP mg 150; colina cloruro mg 50.

Composti di oligoelementi: ferro (carbonato ferroso) E1 mg 100; cobalto (carbonato basico di cobalto) E3 mg 1; iodio (iodato di calcio anidro) E2 mg 5; manganese (ossido manganoso) E5 mg 120; rame (solfato rameico pentaidrato) E4 mg 10; zinco (ossido di zinco) E6 mg 130.

2.3.3 SCHEMA DI CAMPIONAMENTO

Lo schema utilizzato per i vari campionamenti (Tabella 50) ha seguito le fasi della prova, suddivise in “Pre-Challenge” e “Challenge”. I campionamenti sono stati effettuati in due momenti nel periodo “Pre-Challenge”: 4 settimane prima della legatura (“Pre”) e il giorno della legatura (C0); e in cinque momenti nel periodo di “Challenge”: giorno 3 (C3), dopo una settimana (C7), due settimane (C14), tre settimane (C21) e quattro settimane (C28).

I rilievi giornalieri, effettuati durante tutto il periodo, hanno riguardato i seguenti parametri: peso degli animali, quantità e qualità del latte prodotto. Quelli effettuati durante il periodo di “Challenge”, oltre ai precedenti, hanno compreso anche l’ingestione individuale di alimento (unifeed e fieno) e di acqua.

Sono stati continuamente monitorati la ruminazione, la temperatura e il pH ruminale durante tutti i periodi. Anche i dati riguardanti le condizioni ambientali sono stati raccolti giornalmente.

Tabella 50. Schema di rilevazioni e campionamenti adottato durante la sperimentazione.

Matrice	Fase	
	Pre-Challenge	Challenge
Unifeed	Due volte a settimana	
Fieno lungo	Due volte a settimana	
Intake unifeed, fieno e acqua	Medio di gruppo	Individualmente giornalmente
Tempo di ruminazione; peso vivo; produzione; pH e temperatura reticolo-ruminale	Individualmente giornalmente	
Residui di mangiatoia individuali (h 8:00)	-	Settimanalmente
Liquor ruminale	C0	C14, C28
Qualità delle produzioni	Pre, C0	C7, C14, C21, C28
Feci	C0	C3, C7, C21, C28
Condizioni ambientali	Giornalmente	

ANALISI DEGLI ALIMENTI

Le materie prime, l'unifeed e il fieno lungo sono stati campionati ed analizzati con le medesime modalità descritte nella sperimentazione precedente.

INGESTIONE DI SOSTANZA SECCA E ACQUA DI ABBEVERATA

La quantità di S.S. ingerita è stata continuamente registrata ogni giorno durante il periodo di Challenge mediante bilance automatiche (Fabermatica, Ostiano, Italia) posizionate sotto le mangiatoie davanti alle poste fisse ed è stata calcolata la media di gruppo nella fase di Pre-Challenge. Nel calcolo della durata del pasto è stato considerato un intervallo di 20 minuti come tempo minimo per distinguere due singoli pasti.

RILEVAZIONE DELLA FUNZIONALITÀ RUMINALE

Il pH ruminale, la temperatura e la motilità ruminale di ogni animale sono stati continuamente monitorati mediante i sistemi già descritti in precedenza.

LIQUOR RUMINALE

Nei giorni C0, C14 e C28 di ogni gruppo al mattino (ore 8:00) successivamente alla mungitura, sono stati effettuati i prelievi di liquido ruminale a ciascuna bovina in prova. La modalità di esecuzione del prelievo e l'analisi dei campioni ottenuti sono stati effettuati come precedentemente descritto.

QUANTITÀ E QUALITÀ DEL LATTE

Per tutto il periodo sperimentale è stata rilevata la quantità e la qualità individuale di latte prodotto di tutte le bovine sottoposte alla prova come precedentemente descritto.

Le analisi qualitative con metodiche tradizionali del latte sono state condotte *una tantum* all'inizio del periodo di Pre-Challenge (Pre), il giorno prima dell'inizio del periodo di Challenge (C0) e settimanalmente durante tutto il periodo con dieta pro-acidogena nel periodo di Challenge (C7, C14, C21, C28).

La composizione degli acidi grassi è stata analizzata dal laboratorio di Produzioni Animali e Sicurezza Alimentare del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna, tramite gascromatografia per stimare la produzione di CLA (in particolare l'isomero C:18 trans 10 cis 12) come conseguenza della caduta di pH ruminale. Lo schema di campionamento seguito è stato il seguente: alla legatura (C0), a due settimane (C14) e alla fine del periodo di Challenge (C28). I risultati degli acidi grassi sono stati raggruppati secondo la classificazione suggerita da Barbano *et al.* (2014) secondo lo schema:

DeNovo (C4-C15), mixed origin (C16 e C17), preformed (C18 e maggiori), insaturi totali, mono-insaturi, poli-insaturi e acidi grassi cis totali.

COMPOSIZIONE FECALE E DIGERIBILITÀ DELLA FIBRA

Le feci sono state campionate all'inizio della prova (Pre), il giorno precedente allo spostamento degli animali alla posta fissa (C0) e nei giorni 3, 7, 14, 21 e 28 durante il periodo di Challenge.

La composizione fecale è stata valutata con le medesime metodiche utilizzate per gli alimenti e il calcolo della TTD è stato effettuato mediante le formule precedentemente descritte.

SALUTE DEGLI ANIMALI

Le condizioni di salute degli animali sono state giornalmente monitorate e registrate. Eventuali eventi patologici sono stati trattati dal medico veterinario responsabile dell'allevamento.

In particolare, gli eventi che hanno interessato il drastico calo della motilità ruminale sono stati trattati, oltre all'uso di ruminativi naturali (lieviti ed estratti vegetali), con la somministrazione di fieno lungo in mangiatoia.

2.3.4 ANALISI STATISTICA

Tutti i dati sono stati analizzati utilizzando il modello misto mediante il software R (versione 3.5). Sono stati considerati come effetti fissi il periodo sperimentale o il tempo di campionamento, come effetti random l'animale e il blocco, e come struttura ripetuta il tempo inteso come giorno o campionamento.

Inoltre, è stata eseguita la cluster analysis (k-means type) per suddividere i soggetti in base al tempo di ruminazione, in base al quale sono stati individuati due gruppi.

Tali gruppi sono stati utilizzati in un secondo modello misto, analogo al precedente, nel quale come effetto fisso sono stati utilizzati i cluster individuati, mantenendo invariati gli effetti random e la struttura ripetuta.

È stato dichiarato un livello di alta significatività per $P < 0.01$, significatività per $P < 0.05$, mentre una tendenza per $P < 0.10$.

Quando è stata identificata una significatività è stato applicato un test di Tukey per identificare le differenze tra gli effetti.

2.3.5 RISULTATI E DISCUSSIONE

COMPOSIZIONE DELLA DIETA

In Tabella 51, 52, 53 e 54 sono riportate la composizione delle diete, dei residui e del fieno somministrato nel corso della sperimentazione, da cui si evince il drastico aumento del contenuto di amido (23 vs 35, % S.S) a favore della dieta acidogena e il decremento del contenuto di NDF (36 vs 28, % S.S), nonché la differenza nel contenuto di uNDF (10 vs 3, % S.S.).

Tabella 51. Composizione e caratteristiche medie delle materie prime utilizzate nel corso della ricerca.

Parametro (% su S.S)	Fieno
Rilevazioni, n°	32
S.S., %	90.29±0.95
Ceneri	9.80±0.95
Estratti eterei	1.90±0.23
aNDFom	50.23±5.87
ADF	36.91±4.02
ADL	6.50±1.08
IVNDFD24h, % su NDF	44.75±7.01
IVNDFD240h, % su NDF	63.69±4.31
uNDF ₂₄₀	18.20±2.58
pdNDF	32.03±4.66
Amido	2.42±0.33
Zuccheri	5.15±2.13
Proteina greggia	12.13±0.99
Proteine solubili	4.25±0.49
NDIP	5.38±0.49
ADIP	1.65±0.24

Tabella 52. Composizione della razione tipo PR.

Parametro (% su S.S)	Unifeed PR tipo
Rilevazioni, n°	32
S.S., %	87.22±3.00
Ceneri	7.50±1.28
Estratti eterei	3.21±0.47
aNDFom	35.94±4.16
ADF	24.55±2.56
ADL	5.27±1.09
IVNDFD24h, % su NDF	48.07±6.06
IVNDFD240h, % su NDF	76.31±10.73
uNDF240	9.93±3.32
pdNDF	27.26±3.31
Amido	22.95±2.62
Zuccheri	7.55±0.26
Proteina greggia	14.79±1.17
Proteine solubili	4.08±0.36
NDIP	2.79±1.30
ADIP	1.08±0.09

Tabella 53. Composizione della razione Acidogena.

Parametro (% su S.S)	Unifeed Acidogeno
Rilevazioni, n°	32
S.S., %	88.11±0.74
Ceneri	8.06±1.58
Estratti eterei	3.27±0.47
aNDFom	28.38±2.99
ADF	16.29±4.75
ADL	3.37±1.24
IVNDFD24h, % su NDF	46.86±4.71
IVNDFD240h, % su NDF	87.91±0.62
uNDF240	3.05±0.18
pdNDF	24.64±0.97
Amido	35.03±2.18
Zuccheri	7.16±0.36
Proteina greggia	14.18±0.84
Proteine solubili	3.76±0.25
NDIP	2.89±1.33
ADIP	1.02±0.07

Tabella 54. Composizione dei residui della razione Acidogena.

Parametro (% su S.S)	Residui Acidogena
Rilevazioni, n°	32
S.S., %	81.43±4.10
Ceneri	7.35±2.21
Estratti eterei	2.93±0.88
aNDFom	28.18±4.22
ADF	16.17±5.05
ADL	3.66±1.42
IVNDFD24h, % su NDF	49.18±3.87
IVNDFD240h, % su NDF	86.47±1.27
uNDF240	3.36±0.83
pdNDF	22.55±1.95
Amido	36.13±3.65
Zuccheri	6.57±0.32
Proteina greggia	14.27±0.96
Proteine solubili	3.62±0.34
NDIP	3.62±1.11
ADIP	1.09±0.12

GRANULOMETRIA DELLA DIETA

La fibra fisicamente efficace (peNDF), calcolata moltiplicando il valore di NDF della dieta per la quota di particelle superiori a 1.18 mm misurate con Rotap, mostra valori medi intorno al 14 – 17 %, decisamente inferiori al minimo (21 %) suggerito da Mertens (1997). Questi valori non devono destare preoccupazione perché le linee guida si basano sull'esperienza nord americana, mentre nell'area del Parmigiano Reggiano l'uso di soli foraggi secchi, su cui viene operata una trinciatura spinta, porta ad un effetto importante sulla granulometria. Precedenti esperienze condotte dai ricercatori del DIMEVET hanno indicato che la peNDF da considerare nel caso di unifeed a secco (a contenuto di amidi relativamente modesto), utile per mantenere buone condizioni di pH ruminale, possa essere compresa fra il 14 e il 16 % della razione (Fustini *et al.*, 2010). In Tabella 55 sono riportati i valori di fibra fisicamente efficace (peNDF); si può notare come dalla razione standard alla acidotica ci sia un decremento (18 vs 13, % S.S) e come nei residui ci siano un maggior numero di particelle sopra 1.18 mm, rispetto alla razione acidotica di partenza (14 vs 13, % S.S): ciò denota una certa tendenza degli animali a selezionare, preferendo le particelle fini rispetto a quelle grossolane.

Tabella 55. Risultati relativi alla granulometria dell'unifeed valutata con diversi sistemi di setacciatura.

Parametro	Unifeed PR tipo	Unifeed Acidogeno	Residuo Acidogeno
Rilevazioni, n°	32	32	32
PEF PSPS*, % su S.S.	33.01±7.57	23.96±3.69	25.65±4.78
PEF RO-TAP, % su S.S.	48.87±3.74	46.17±3.00	50.07±3.80
peNDF, % su S.S.	17.56±1.35	13.10±0.85	14.11±1.07

*PSPS: *Penn State particle size separator* (Maulfair *et al.*, 2011)

ASSUNZIONE DI ALIMENTO

Nella Figura 31 e 32 vengono riportati i dati relativi all'assunzione di sostanza secca (SSI) nell'arco del periodo di Challenge. Si può notare come i valori siano distribuiti in modo normale e siano consoni alla taglia degli animali e alla fase produttiva.

Nella Figura 32 è interessante notare la minore ingestione di SS verificatasi nei primi 3-4 giorni di sperimentazione, a causa dello stress causato agli animali dal cambio repentino di dieta e dalla legatura.

Anche in questa esperienza, ricalcando la precedente, il cambio di dieta e stabulazione ha mediamente reso necessari 4-5 giorni da parte delle bovine per potersi adattare. Da tenere in considerazione che, in questo caso, il cambio di dieta era importante dal punto di vista della composizione e che, sommatosi al cambio di stabulazione, deve essere stato un'importante fonte di stress. Sono questi, dunque, ulteriori dati che confermano come le bovine siano animali dotati di un'incredibile capacità di adattarsi ai cambiamenti gestionali ed alimentari.

Nello stesso grafico, nonostante gli animali abbiano nuovamente raggiunto alti livelli di ingestione intorno al quinto giorno, si può notare come l'andamento sia stato altalenante per tutta la durata della prova. Questi bruschi cali d'ingestione sono probabilmente imputabili all'effetto inibente sulla motilità ruminale della dieta acidogena (Oetzel, 2007). La quantità di alimento ingerito tornava poi ad aumentare in seguito alla somministrazione di fieno lungo, che avveniva in caso di bisogno per impedire ripercussioni negative sulla salute degli animali.

Figura 31. Distribuzione dell'assunzione di sostanza secca media (SSI, kg) durante il Challenge.

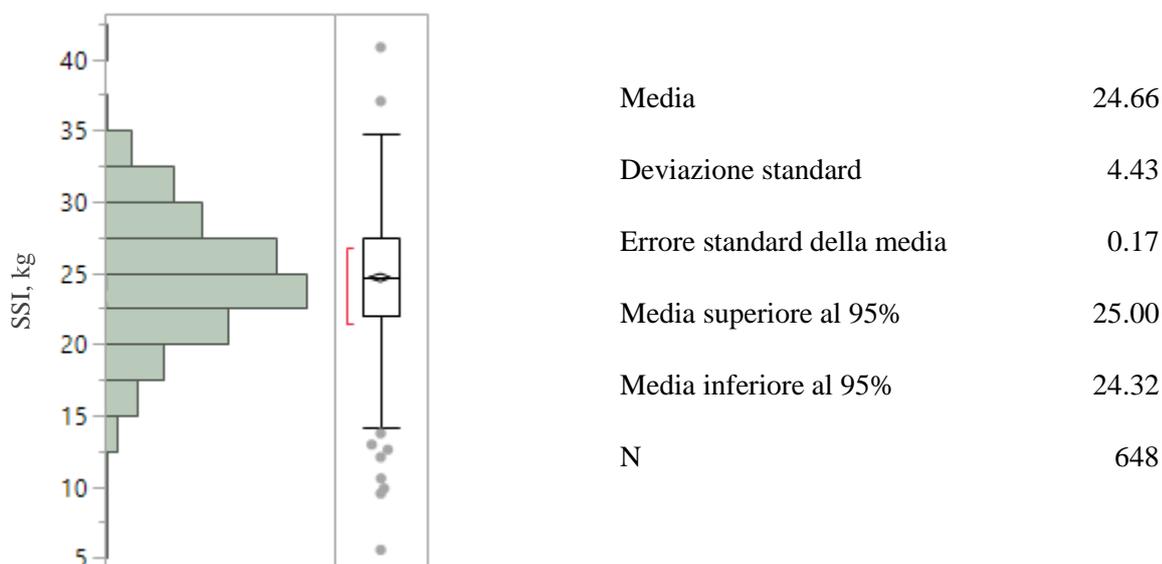
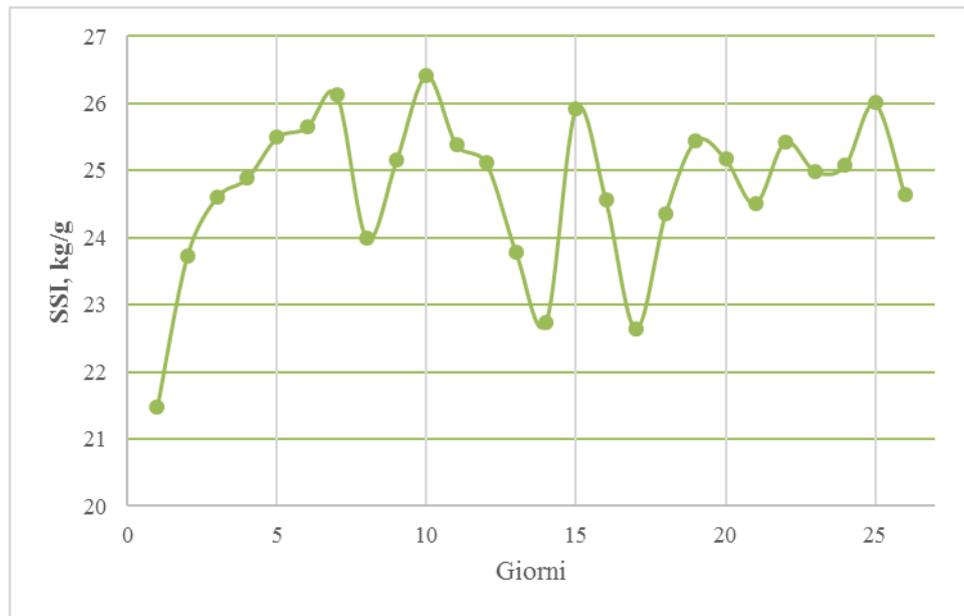


Figura 32. Rappresentazione dell'andamento dell'assunzione di S.S. (kg/giorno) durante il Challenge.

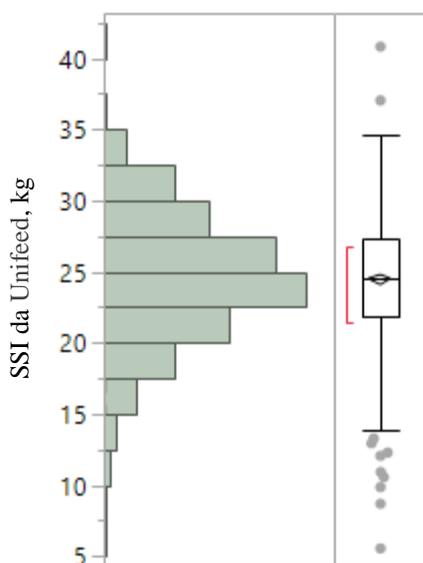


CONSUMO DI UNIFEED

La Figura 33 riporta i valori di assunzione di unifeed. L'ingestione di unifeed si è attestata in media oltre i 24 kg di secco denotando una buona capacità di ingestione durante tutta la fase di Challenge.

Dal grafico di distribuzione delle rilevazioni si evidenziano una quota di giornate in cui il valore è sotto i 15 kg, quando le bovine, per motivi sanitari, assumevano una quota inferiore di unifeed rispetto alla condizione di normalità. Queste giornate sono importanti dal punto di vista scientifico per identificare i fattori causali dei cali di ingestione che si possono verificare nella mandria.

Figura 33. Distribuzione dell'assunzione di unifeed (SSI, kg) durante il Challenge.



Media	24.49
Deviazione standard	4.51
Errore standard della media	0.18
Media superiore al 95%	24.84
Media inferiore al 95%	24.14
N	648

CONSUMO DI FIENO LUNGO

Dal Grafico 34 si può notare come la somministrazione di fieno lungo sia stata incrementale dal terzo giorno sperimentale e si sia azzerata dopo il ventesimo. Questo suggerisce che la dieta acidogena abbia impiegato circa due giorni per alterare l'ecosistema ruminale, che ha poi ritrovato un nuovo equilibrio dopo circa 3 settimane.

Figura 34. Distribuzione dell'ingestione di fieno (SSI, kg) durante il Challenge.

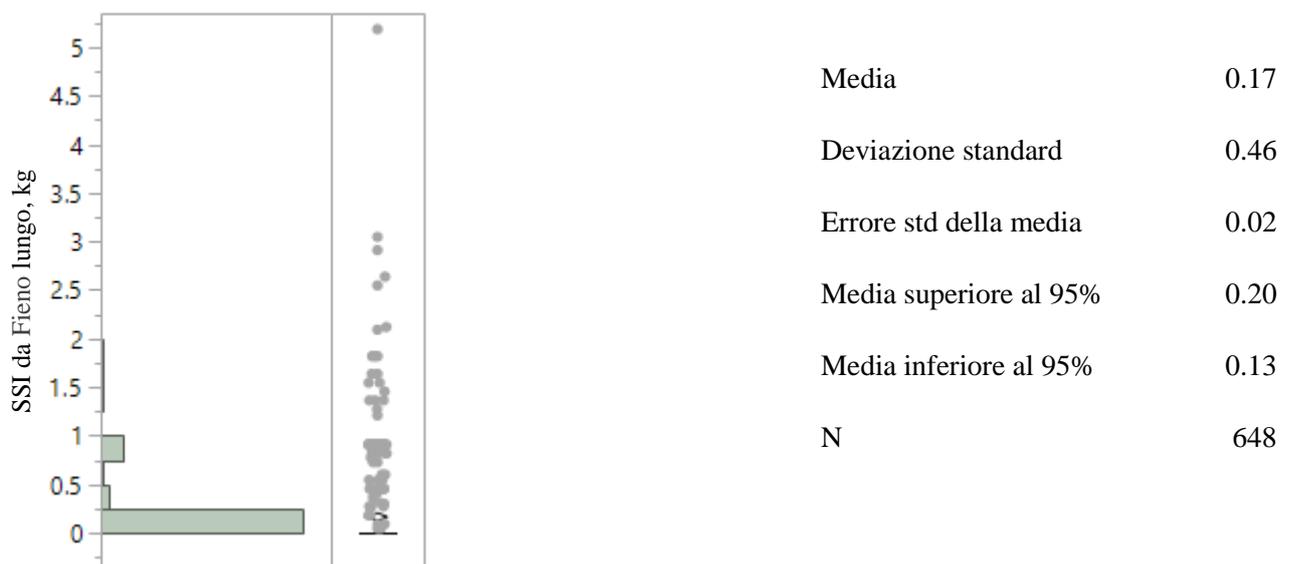
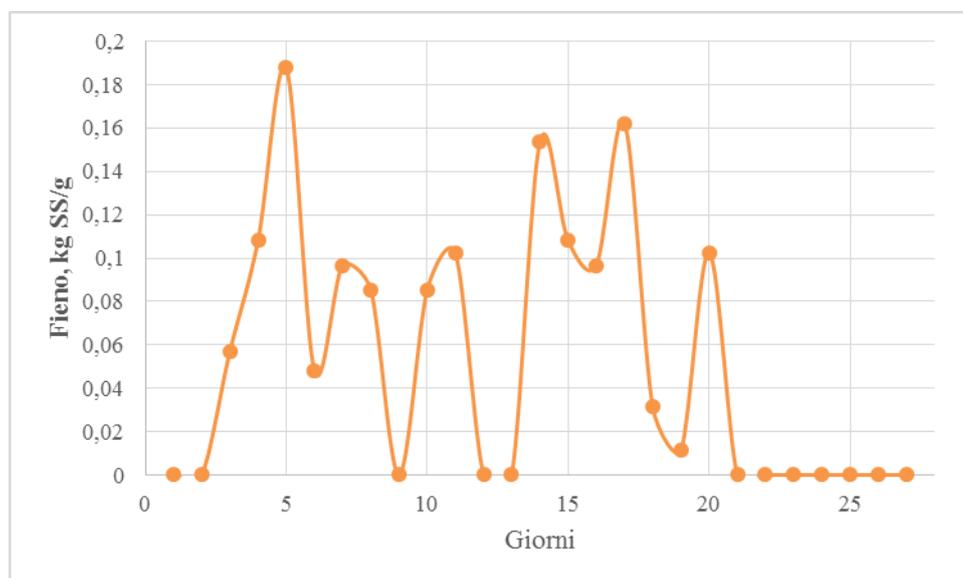


Figura 35. Andamento dell'assunzione di fieno (kg/giorno) durante il periodo di Challenge.



ASSUNZIONE DI ACQUA DI ABBEVERATA

Anche per quel che concerne l'assunzione di acqua, nelle Figure 36 e 37 si può notare una fase iniziale caratterizzata da una minore assunzione dei primi giorni sperimentali, seguita da una fase compensatoria e infine da un andamento più stabile. La scarsa assunzione di acqua nei primi giorni di challenge è da imputare alla difficoltà delle bovine ad adattarsi al cambio di dispenser; infatti nel periodo a stabulazione libera vi erano gli abbeveratoi a vasca, mentre durante la fase di Challenge questi erano a tazzetta con azionamento a spinta. Si può dunque vedere come il tempo medio impiegato ad adattarsi alla nuova modalità di somministrazione dell'acqua di abbeverata sia stato di sempre 3 - 4 giorni.

Figura 36. Distribuzione dell'assunzione di acqua (L) durante il Challenge.

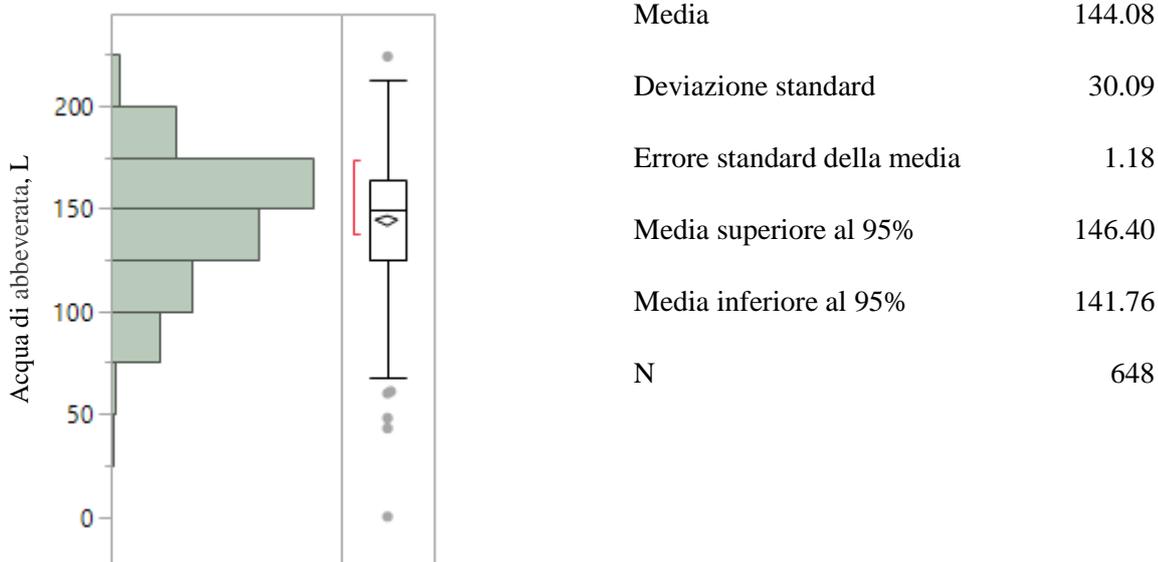
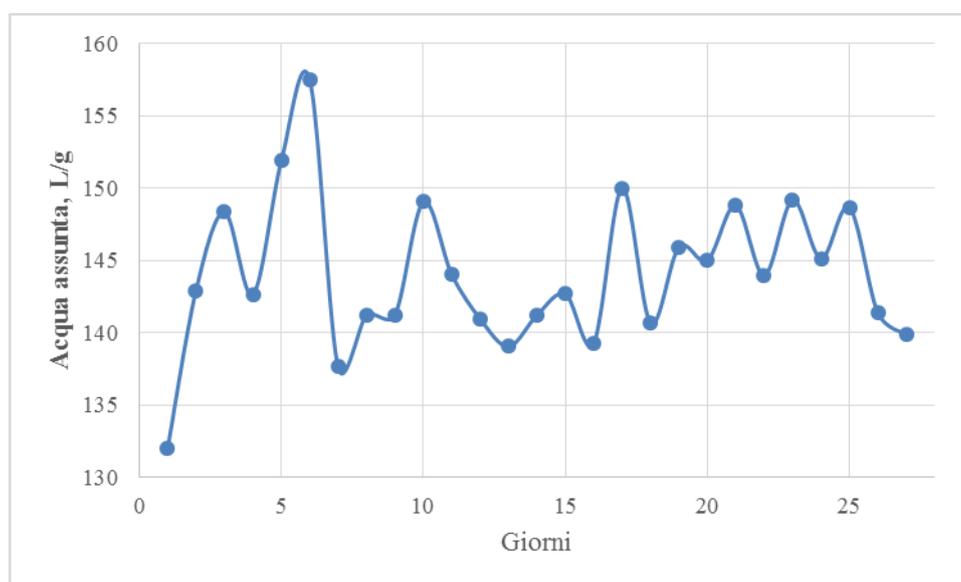


Figura 37. Andamento dell'assunzione di acqua (L/giorno) durante il Challenge.



ANDAMENTO DEL PESO VIVO

In Tabella 56 sono riportati i dati relativi al peso vivo registrato delle bovine in sperimentazione. Come si può constatare vi è un andamento costante del peso, ciò significa che il periodo di Challenge, di sole 4 settimane, seppur prevedendo una dieta a maggiore intensità energetica, non ha modificato il peso delle bovine in sperimentazione.

Tabella 56. Peso vivo medio degli animali nei diversi periodi della sperimentazione.

Parametro	Pre Challenge	Challenge	SEM	<i>P</i>
Peso vivo, kg	634.31	634.07	15.5	0.90

ANDAMENTO DELLA RUMINAZIONE

La Tabella 57 e Figura 39 riportano i dati relativi alla ruminazione rilevata. I dati mostrano la drastica diminuzione dei minuti di ruminazione verificatasi tra il periodo Pre-Challenge e di Challenge (500 vs 385, min/giorno) e come il dato sia fortemente significativo ($P < 0.01$). Dato fortemente atteso in linea con quello riportato in ricerche precedenti (Calamari *et al.*, 2014). Un calo così drastico della ruminazione è sintomo di uno stato di non completa sanità nelle bovine, infatti in molte ricerche (Stangaferro *et al.*, 2015) la ruminazione

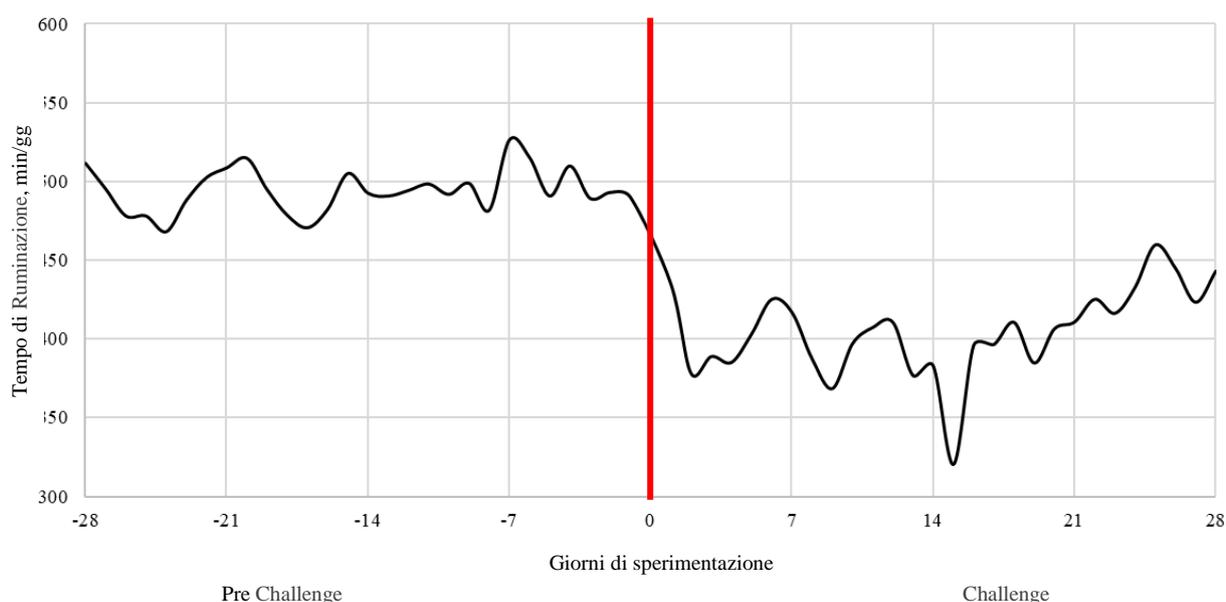
viene utilizzata come indicatore precoce di stati patologici. Per questo motivo tale indice è integrato negli algoritmi di allerta della mandria in molti sistemi automatici, come i collari o i tag auricolari.

Nella Figura 39 la linea rossa indica l'inizio del periodo di Challenge, a partire dal quale il calo di ruminazione si nota essere netto e continuo per i primi 3 - 4 giorni, per poi settarsi ad un nuovo livello inferiore ma costante. Questo è il tempo di cui il rumine, inteso come microbiota e parete assorbente, ha necessitato per adattarsi alla nuova dieta. Si riporta inoltre, come a 14 - 15 giorni di dieta acidogena vi sia il valore minimo di ruminazione media; due settimane è difatti il tempo minimo riportato in bibliografia per definire l'adattamento del rumine ad una nuova dieta. Infatti, nella prova precedente, lo schema a quadrato latino prevedeva 2 settimane di adattamento e una di raccolta dati. Si osserva nel Grafico 39, successivamente a queste due settimane, un lieve ma costante incremento dei tempi di ruminazione, sintomo che la fase di stress da parte del rumine sia finita e l'organismo inizi a reagire e diventare più efficiente nel sopportare gli stress dietetici a cui è esposto. Dato confermato dall'assenza di somministrazione di fieno lungo dopo le 3 settimane di sperimentazione.

Tabella 57. Andamento medio della ruminazione negli animali in sperimentazione nei diversi periodi.

Parametro	Pre Challenge	Challenge	SEM	<i>P</i>
Ruminazione, min/gg	498.86 ^A	384.48 ^B	18.89	<.01

Grafico 39. Andamento della ruminazione durante l'intera sperimentazione.



PH E TEMPERATURA RETICOLO-RUMINALE

PH RETICOLO-RUMINALE

In Tabella 58 sono riportati i dati relativi al pH reticolo-ruminale registrati durante la sperimentazione. Da questi dati si può notare come i valori medi giornalieri di pH siano uguali in tutti i periodi sperimentali ($P > 0.10$), ma la deviazione standard all'interno della giornata aumenti significativamente ($P > 0.01$) durante il periodo di Challenge; ciò denota una maggiore variazione tra i valori minimi e massimi raggiunti nella giornata. A conferma di questo, i minuti di pH inferiori a 5.8 e 5.5 sono aumentati nel periodo con dieta acidogena. Nello specifico hanno superato i 300 minuti/giorno per i valori inferiori a 5.8, definito come valore soglia nella definizione di SARA (Zebeli *et al.*, 2012), risultando altamente significativi ($P > 0.01$) e hanno superato i 50 minuti/giorno per i valori inferiori a 5.5 ($P > 0.01$). I valori si sono poi riconfermati nel calcolo dell'area sottesa dalla curva di pH per entrambi i parametri. Questo andamento sopra descritto è ben visibile nelle Figure 41 e 42, riguardanti i minuti sotto 5.8 e 5.5 rispettivamente.

Benchè i minuti di pH inferiori ai valori soglia siano aumentati, denotando un effetto della dieta sul sistema ruminale, questo aumento è stato inferiore alle aspettative. Infatti, nonostante la dieta formulata fosse estrema, non ha sortito gli effetti attesi. Per cercare una motivazione a quanto accaduto possono essere formulate differenti ipotesi. Dalla bibliografia si apprende che la localizzazione prevalente del bolo è a livello reticolare; in particolare nello studio di Sato *et al.* (2012b) e in quello di Falk *et al.* (2016), in cui è stato comparato il pH registrato a livello ruminale e reticolare nel medesimo animale, il pH reticolare si è attestato su valori superiori di 0.2 - 0.7 punti rispetto a quello ruminale e le fluttuazioni di pH a livello reticolare sono state inferiori rispetto al rumine. Un secondo fattore può essere dovuto alla natura dell'amido del mais, cereale utilizzato per il challenge nutrizionale, che è notoriamente meno fermentescibile a livello ruminale rispetto alle fonti più comunemente utilizzate nei challenge nutrizionali pubblicati in letteratura, come grano o orzo. Altra peculiarità della dieta somministrata in questa sperimentazione rispetto alla bibliografia è la base foraggera; infatti la maggior parte delle prove precedenti utilizzavano unifeed basati su insilati, in particolare silomais, che ha un pattern fermentativo completamente diverso dal fieno polifita utilizzato in questa sperimentazione. Da non sottovalutare il fattore determinato dalla stabulazione, infatti le bovine in sperimentazione erano in stabulazione fissa, condizione per cui vi è assenza di competizione e fenomeni gerarchici. Si ipotizza che l'aver l'alimento *ad libitum* di fronte a sé porti ad assumere più pasti durante la giornata di minore entità, avendo un'ingestione più moderata e costante di carboidrati fermentescibili, il che favorirebbe nel mantenere dei pattern di fermentazione più costanti e stabili. Per ultima, ma non meno importante, si ipotizza una certa capacità di adattamento delle bovine a diete molto concentrate, dovuta alla selezione che negli anni ha portato ad avere capi più resistenti ed efficienti nel gestire eccessi di fenomeni fermentativi. Probabilmente tutti o parte di questi fattori concorrenti hanno contribuito a mitigare il challenge nutrizionale applicato, con il risultato di ottenere un calo del pH evidente ma non così importante.

Tabella 58. Risultati relativi al pH ruminale medio giornaliero durante la prova e i minuti trascorsi al di sotto dei valori di pH 5.8 e 5.5.

Parametro	Pre	Challenge	SEM	<i>P</i>
pH media giornaliero	6.06	6.05	0.02	0.46
pH dev st. giornaliera	0.17	0.19	0.01	<.01
pH <5.8 min/g	289.70	304.69	33.98	<.01
pH <5.5 min/g	34.00	52.67	22.13	<.01
pH <5.8 area/g	43.84	54.61	13.51	<.01
pH <5.5 area/g	3.26 ^B	5.97 ^A	2.59	<.01

TEMPERATURA RETICOLO-RUMINALE

In Tabella 59 sono riportati i dati relativi alle temperature registrate dal bolo wireless a livello reticolo-ruminale. Dai dati emerge un aumento della temperatura media giornaliera registrata durante il periodo di Challenge (38.85 °C, $P < 0.01$), fatto atteso che denota una maggior attività fermentativa che si verifica a livello ruminale in animali alimentati con diete ricche in concentrati (Humer *et al.*, 2018). Al contrario, la deviazione standard giornaliera è diminuita nel periodo di Challenge ($P < 0.01$), dato inatteso e di difficile interpretazione. Dai dati ottenuti sembrerebbe che la maggior temperatura raggiunta con la dieta acidogena sia più stabile e quindi costantemente più alta, fatto confermato da una minor quantità di minuti sopra i 40 °C al giorno ($P < 0.05$). Una possibile spiegazione di una temperatura ruminale più alta e più costante è da ricercare nella modificazione di stabulazione delle bovine nei diversi periodi. Va ricordato che nel periodo Pre-Challenge gli animali erano a stabulazione libera mentre in Challenge erano a stabulazione fissa con la tazzetta individuale e sempre ben raggiungibile; questo potrebbe aver comportato una variazione del comportamento di assunzione di acqua degli animali. Infatti, la temperatura reticolo-ruminale, visto il posizionamento del bolo, è fortemente influenzata dall'acqua di abbeverata. È verosimile ipotizzare che le bovine in posta fissa e con la tazzetta facilmente raggiungibile senza spostamenti compiano più abbeverate e di minore entità durante la giornata; ciò comporterebbe una minore diminuzione della temperatura ruminale, causandone un aumento, seppur modesto (38.85 vs 38.62, °C), e quindi anche una diminuzione delle variazioni della stessa e di conseguenza della deviazione standard.

Tabella 59. Risultati relativi alla temperatura ruminale rilevata mediante bolo wireless durante la prova.

Parametro	Pre Challenge	Challenge	SEM	<i>P</i>
T reticolo-ruminale media, °C	38.58	38.85	0.06	<.01
T dev st. giornaliera	1.73	1.24	0.08	<.01
T > 40° min/g	104.01	84.36	18.50	<.05
T > 40° area/g	34.29	30.55	9.83	0.29

LIQUOR RUMINALE

In Tabella 60 sono riportati i risultati relativi al contenuto in AGV, lattati e ammoniaca del liquor ruminale. È evidente l'effetto esercitato dalla dieta ricca in concentrati nell'innalzare nel tempo la concentrazione di AGV totali da 89.37 a 105 mmol/L ($P < 0.01$). Allo stesso modo si nota un aumento del contenuto di acetato ($P < 0.05$) e propionato ($P < 0.01$), mentre non è emersa alcuna differenza nel butirrato e nelle frazioni minori di AGV ruminali valutati quali n-butirrato, valeriato e n-valeriato.

Diversamente dalle aspettative, il contenuto di lattati (L-lattato e D-lattato) non ha subito aumenti statisticamente significativi, anche se in valore assoluto c'è stato un aumento al tempo C14 al C0. Tuttavia, il prelievo del liquor è stato effettuato al mattino prima del pasto e questo può spiegare come la quantità di lattati non abbia subito incrementi dovute alla fermentazione dei concentrati della dieta. Anche la modalità di campionamento, per sonda esofagea, potrebbe aver alterato la quota in lattati a causa della contaminazione salivare, che non è possibile escludere.

Infine, l'azoto ammoniacale a livello ruminale durante il periodo di Challenge ha subito una notevole diminuzione (da 9.14 a 6.79 mg/dl, in C0 e C28 rispettivamente, $P < 0.01$), risultando altamente significativo ($P < 0.01$). Nonostante il quantitativo sia inferiore rispetto a quello riscontrato nella prova precedentemente esposta, non ha comportato risvolti negativi nella fisiologia e nelle performance produttive degli animali. Questo dato è interessante in quanto può far ipotizzare che, in un sistema come questo in cui vi è un eccesso di energia e un'apparente carenza di azoto, i meccanismi di ricircolo dell'azoto presenti nei ruminanti possano sopperire e far fronte alle necessità batteriche. Da questo si evince che, diversamente dall'uso comune e dai dati presenti ad oggi, la quantità di proteina possa essere ridotta in razione senza inficiare le produzioni. Queste ipotesi sono del tutto innovative e necessitano di studi futuri e approfonditi, che sarebbero molto interessanti sia dal punto di vista dell'economia aziendale che ambientale.

Tabella 60. Quantità di AGV e azoto ammoniacale registrati a livello ruminale nei time point campionati.

Parametro	C0	C14	C28	SEM	<i>P</i>
AGV totali, mmol/l	89.37 ^B	106.61 ^A	104.43 ^A	4.29	<.01
Acetico, %/mmol	50.21 ^B	57.01 ^A	54.35 ^{AB}	2.35	<.05
Propionico, %/mmol	25.16 ^B	35.69 ^A	36.11 ^A	2.51	<.01
Isobutirrico, %/mmol	0.43	0.48	0.45	<0.05	0.60
n-Butirrico, %/mmol	11.42	11.29	11.51	0.67	0.97
Isovalerico, %/mmol	0.96	1.01	1.13	0.12	0.62
Valerico, %/mmol	1.2	1.13	1.13	0.89	0.16
L-lattico, mg/l	133.55	167.54	134.36	24.12	0.33
D-lattico, mg/l	147.71	189.27	143.31	26.18	0.40
NH ₃ , mg/dl	9.14 ^A	8.88 ^A	6.79 ^B	1.11	<.01

PRODUZIONE QUANTI-QUALITATIVA DI LATTE

In Tabella 61 sono riportati i valori di produzione di latte. Si può notare il calo della produzione latte durante il periodo di Challenge, dato sicuramente dovuto sia allo stress nutrizionale somministrato sia, probabilmente, all'effetto dello scorrere del tempo sulla curva di lattazione.

Tabella 61. Produzione di latte.

Parametro	Pre	Challenge	SEM	<i>P</i>
Latte prodotto, kg/g	42.59	41.33	1.32	<.01

In Tabella 62 sono riportate le analisi qualitative del latte. Da sottolineare come il contenuto di grasso nel periodo di Challenge con dieta acidogena sia drasticamente diminuito (da 3.42 a 2.73 % in Pre e C21 rispettivamente, $P < 0.01$) e il dato sia stato fortemente significativo ($P < 0.01$). Questo risultato è in linea con le comuni fonti bibliografiche (Plaizier *et al.*, 2008; Humer *et al.*, 2018) e sottolinea come l'effetto della dieta sia stato incisivo nel modificare le dinamiche ruminali. Dato confermato dalla forte diminuzione del rapporto grasso/proteina nel periodo di Challenge ($P < 0.01$). Il contenuto di proteina invece non ha subito variazioni significative, mentre i valori di urea nel latte sono anch'essi significativamente diminuiti ($P < 0.01$), rispecchiando l'andamento dell'azoto ammoniacale nel rumine. Da questi dati si evince come, seppure in presenza di valori estremamente bassi di azoto in circolo, questi siano comunque sufficienti per mantenere ottimi livelli di produzione proteica nel latte. Risultati che, se confermati da ricerche future, risulterebbero estremamente innovativi e aprirebbero la strada alla formulazione di razioni con contenuti proteici inferiori rispetto a quelle comunemente utilizzate.

Il contenuto in cellule somatiche espresso su base logaritmica ha mostrato un aumento durante tutta la prova, dato atteso e possibilmente dovuto allo stress apportato.

Tabella 62. Risultati relativi alla qualità del latte prodotto nei time point campionati.

Parametro	Pre	C0	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
Grasso, %	3.45 ^{AB}	3.42 ^{AB}	3.02 ^{BC}	3.05 ^{BC}	2.73 ^C	3.09 ^{BC}	0.12	<.01
Proteina, %	3.20	3.25	3.19	3.23	3.27	3.27	0.06	0.17
Grasso/Proteina	1.08 ^{AB}	1.05 ^{AB}	0.95 ^{BC}	0.95 ^{BC}	0.83 ^C	0.94 ^{BC}	0.03	<.01
Lattosio, %	5.01 ^A	4.99 ^A	5.02 ^A	5.04 ^A	5.03 ^A	5.02 ^A	0.03	<.01
Urea, mg/dl	14.87 ^{BC}	20.27 ^A	10.34 ^{CD}	11.62 ^{CD}	10.66 ^{CD}	9.39 ^D	1.33	<.01
SCC log	11.71 ^C	11.92 ^C	12.55 ^{ABC}	12.87 ^{AB}	12.91 ^{AB}	12.82 ^{AB}	0.39	<.01

PROFILO DEGLI ACIDI GRASSI DEL LATTE

Il profilo degli acidi grassi nel latte ha riportato notevoli variazioni attribuibili all'effetto della dieta. Nelle Tabelle 63, 64, 65 e 66 sono riportati i risultati riguardanti il profilo degli acidi grassi del latte secondo i raggruppamenti suggeriti da Barbano *et al.* (2014).

In Tabella 63 sono riportati gli AG di neoformazione ruminale (DeNovo) che comprendono da C4 a C15; l'andamento della somma di questi acidi grassi è aumentato durante il periodo di Challenge ($P = 0.01$). Considerando i dati singolarmente, si nota come i C4:0, C6:0 e C8:0, acidi grassi a più corta catena di neoformazione ruminale, diminuiscono nel tempo ($P < 0.01$) mentre i C12:1, C14:0, C14:1, acidi grassi di neoformazione a più lunga catena, viceversa aumentano ($P < 0.01$). Essendo quest'ultimi in quantità assoluta maggiore hanno un maggior peso nel modificare la somma totale dei DeNovo.

Tabella 63. Profilo degli acidi grassi DeNovo del latte (%/100% AG) nei time point campionati.

Parametro	C0	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
AG DeNovo	23.01 ^B	24.61 ^A	23.27 ^{AB}	24.55 ^{AB}	23.97 ^{AB}	0.62	0.01
C4:0	1.32 ^A	1.15 ^A	1.11 ^A	1.12 ^A	0.78 ^B	0.15	<.01
C6:0	1.27 ^A	1.18 ^A	1.06 ^{AB}	1.07 ^{AB}	0.92 ^B	0.09	<.01
C8:0	1.03 ^A	0.97 ^{AB}	0.88 ^B	0.92 ^{AB}	0.97 ^B	0.05	0.01
C10:0	2.08 ^{AB}	2.21 ^A	1.90 ^B	2.03 ^{AB}	1.91 ^B	0.14	0.01
C10:1	0.65	0.66	0.57	0.58	0.58	0.09	0.18
C12:0	2.55	2.86	2.72	2.78	2.66	0.33	0.16
C12:1	0.76	0.87	0.71	0.82	0.89	0.25	<.10
C14:0	10.72 ^B	11.71 ^A	11.24 ^{AB}	11.88 ^A	11.75 ^A	0.22	<.01
C14:1	1.39 ^C	1.58 ^{BC}	1.56 ^{BC}	1.79 ^{AB}	1.89 ^A	0.15	<.01
C15:0	1.25 ^C	1.41 ^{BC}	1.53 ^{AB}	1.57 ^{AB}	1.72 ^A	0.11	<.01

In Tabella 64 sono riportati gli acidi grassi di origine mista (mixed origin) di cui fanno parte C16 e C17. Dalla somma degli stessi è possibile notare un andamento stabile nei primi periodi di prelievo per aumentare in vista dell'ultimo campionamento; questo andamento si rafforza se C16:0 e C16:1 vengono considerati singolarmente ($P < 0.01$).

Tabella 64. Profilo degli acidi grassi mixed origin del latte (%/100% AG) nei time point campionati.

Parametro	C0	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
AG mixed origin	31.70 ^{BC}	31.91 ^{ABC}	31.00 ^C	32.50 ^{AB}	33.15 ^A	0.54	<.01
C16:0	29.61 ^{AB}	29.80 ^{AB}	28.68 ^B	30.10 ^{AB}	30.49 ^A	0.46	0.01
C16:1	1.43 ^B	1.44 ^B	1.63 ^{AB}	1.76 ^{AB}	1.97 ^A	0.22	<.01
C17:0	0.67	0.67	0.68	0.64	0.68	0.05	0.70

La Tabella 65 riporta gli acidi grassi di origine alimentare (preformed) di cui fanno parte C18 e gli acidi grassi a più lunga catena, la cui somma risulta tendenzialmente in diminuzione durante il periodo di Challenge ($P < 0.01$). Osservando i singoli acidi grassi si può notare come questo andamento sia molto marcato nel C18:3, C20:0 e C20:4 ($P < 0.01$). Al contrario, i CLA (coniugati dell'acido linoleico) hanno un diverso andamento: il cis9, trans11 C18:2 tende ad aumentare ($P < 0.01$) e il trans10,cis12 C18:3 si mantiene stabile.

Tabella 65. Profilo degli acidi grassi preformed del latte (%/100% AG) nei time point campionati.

Parametro	C0	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
AG preformed	40.98 ^A	38.94 ^{AB}	40.64 ^A	37.93 ^B	37.93 ^B	0.94	<.01
C18:0	9.74 ^A	8.51 ^B	8.20 ^{BC}	7.10 ^{CD}	6.55 ^D	0.05	0.50
C18:1 n7+n9	26.04 ^{AB}	25.41 ^B	27.11 ^A	25.63 ^{AB}	26.28 ^{AB}	0.74	<.05
C18:2	3.58	3.49	3.76	3.79	3.73	0.24	0.31
C18:3	0.58 ^A	0.46 ^B	0.44 ^B	0.44 ^B	0.41 ^B	0.02	<.01
cis9,trans11 C18:2	0.48 ^B	0.62 ^{AB}	0.71 ^A	0.56 ^{AB}	0.57 ^{AB}	0.07	<.01
trans10,cis12 C18:2	0.24	0.21	0.25	0.25	0.25	0.03	0.23
C20:0	0.08 ^A	0.05 ^{BC}	0.05 ^B	0.03 ^{BC}	0.03 ^C	0.02	<.01
C20:4	0.23 ^A	0.17 ^{AB}	0.12 ^B	0.12 ^B	0.12 ^B	0.03	<.01

In Tabella 66 sono riportati i valori relativi agli acidi grassi insaturi del latte campionato. Sono stati raggruppati come insaturi totali, mono, poli insaturi e acidi grassi cis. Gli acidi grassi insaturi totali, similmente ai polinsaturi, hanno mostrato un andamento tendenzialmente stabile; al contrario, gli acidi grassi monoinsaturi hanno registrato un aumento durante il trattamento con dieta acidogena ($P < 0.05$). Infine, i cis totali hanno subito delle fluttuazioni durante la sperimentazione, rimanendo però sostanzialmente stabili.

Tabella 66. Profilo degli acidi grassi insaturi del latte (%/100% AG) nei time point campionati.

Parametro	C0	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
AG insaturi totali	34.66	34.10	35.91	34.92	35.88	0.96	<.05
AG mono insaturi	30.27	29.97	31.59	30.58	31.61	0.80	<.05
AG poli insaturi	4.39	4.13	4.32	4.34	4.27	0.26	0.69
AG total cis	27.47 ^{AB}	26.85 ^B	28.74 ^A	27.39 ^{AB}	28.25 ^{AB}	0.64	<.05

COMPOSIZIONE DELLE FECI E DIGERIBILITÀ DELLA FIBRA

In Tabella 67 sono riportati i risultati riguardanti le analisi dei campioni fecali raccolti nel corso della prova. Come si evince, l'escrezione delle frazioni fibrose NDF e ADF si è mantenuta costante con minime variazioni nel tempo, non relazionate ai periodi sperimentali. L'escrezione di lignina (ADL), al contrario, è diminuita durante il periodo di Challenge in maniera molto significativa ($P < 0.01$). L'andamento è stato confermato dall'incremento della digeribilità della NDF a 24 e 240 ore (dNDF 24/240h) ($P < 0.01$) e dalla relativa diminuzione del contenuto di NDF indegradabile-indigeribile (uNDF) ($P < 0.01$). Tutti questi dati riflettono una buona digeribilità della fibra, confermati dal calcolo della TTPdNDFD (digeribilità totale della NDF potenzialmente degradabile) dove, a differenza delle aspettative, emerge un incremento della digeribilità della fibra durante il periodo di dieta acidogena, in controtendenza rispetto ai dati comunemente riscontrabili in bibliografia (Allen, 1997; Zebeli *et al.*, 2009; Humer *et al.*, 2018). Ciò denota una buona attività della flora microbica ruminale cellulolitica che, in condizioni di basso pH, sarebbe inibita (Wetzels *et al.*, 2017). Deve essere sottolineato che il contenuto percentuale di fibra apportata con la dieta era inferiore nella fase di Challenge; perciò è possibile ipotizzare che le popolazioni cellulolitiche, parzialmente o non inibite, abbiano aumentato la loro efficienza nel fermentare la poca fibra somministrata al fine di sfruttare al massimo il substrato apportato.

Come aspettato il contenuto di amido nelle feci è aumentato, seppur in quantità modeste che però sono risultate molto significative ($P < 0.01$) all'analisi statistica. Ciò è dovuto alla maggior quantità di amido che bypassa il rumine per essere digerito a livello intestinale e che si rileva infine a livello fecale. Ancora una volta le capacità digestive e assorbitive dell'intestino sono risultate superiori alle aspettative, considerata la grande quantità di amido apportata con la dieta e quella ritrovata nelle feci che, per quanto aumentata, non è risultata eccessiva.

Tabella 67. Analisi chimiche delle feci e digeribilità della fibra nei time point campionati.

Parametro	Pre	C0	C3	C7	C14	C21	C28	SEM	<i>P</i>
Ceneri, %SS	10.21 ^B	10.82 ^B	9.88 ^B	10.42 ^B	9.82 ^B	10.66 ^B	9.94 ^B	0.31	<.01
Proteina grezza, %SS	14.12 ^b	14.12 ^{ab}	14.24 ^b	14.55 ^{ab}	14.48 ^{ab}	14.22 ^{ab}	14.75 ^{ab}	0.38	<.05
Amido, %SS	2.27 ^{BC}	2.22 ^{BC}	2.44 ^B	2.78 ^A	2.57 ^{AB}	2.56 ^{AB}	2.56 ^{AB}	0.16	<.01
aNDFom, %SS	60.09 ^{AB}	57.99 ^{BC}	60.44 ^A	57.08 ^C	57.76 ^{BC}	56.72 ^C	59.87 ^{AB}	0.64	<.01
ADF, %SS	41.98 ^A	40.86 ^{AB}	41.38 ^A	39.62 ^B	40.20 ^{AB}	40.29 ^{AB}	40.35 ^{AB}	0.67	<.01
ADL, %SS	16.04 ^{AB}	16.63 ^{ABC}	15.27 ^{BCD}	14.42 ^{CD}	14.89 ^{BCD}	14.02 ^D	14.46 ^{CD}	0.41	<.01
dNDFom24h, %NDF	10.68 ^{AB}	11.96 ^A	10.51 ^{AB}	12.14 ^A	11.35 ^A	11.74 ^A	11.57 ^A	0.67	<.01
dNDFom240h, %NDF	38.53 ^C	38.29 ^C	39.86 ^{BC}	40.01 ^{BC}	41.16 ^{ABC}	44.69 ^A	42.64 ^{AB}	1.39	<.01
uNDFom240h, %NDF	34.75 ^A	34.05 ^A	34.42 ^A	30.16 ^{BC}	32.31 ^{ABC}	28.74 ^C	31.91 ^{ABC}	1.09	<.01
TTD, %pdNDF	72.82 ^D	73.63 ^D	90.30 ^A	88.96 ^{AB}	89.30 ^{AB}	88.01 ^B	89.24 ^{AB}	1.08	<.01

EVENTI SANITARI

In Tabella 68 sono riportati gli eventi sanitari registrati durante la sperimentazione; i numeri riportati in tabella fanno riferimento al numero di soggetti che ha sofferto di tale evento.

Si nota soprattutto l'incremento del numero di bovine con episodi di bassa ruminazione ed elevate cellule somatiche. Dato della ruminazione in linea con i livelli medi riportati in Tabella 57 e delle cellule somatiche con l'incremento riportato in Tabella 62.

Tabella 68. Eventi sanitari registrati durante la sperimentazione (n° di bovine colpite).

Parametro	Pre-Challenge	Challenge
Tempo di ruminazione < 200 min/gg	1	10
Mastiti cliniche	2	1
SCC > 300	2	8

DEFINIZIONE DI BLOCCO RUMINALE

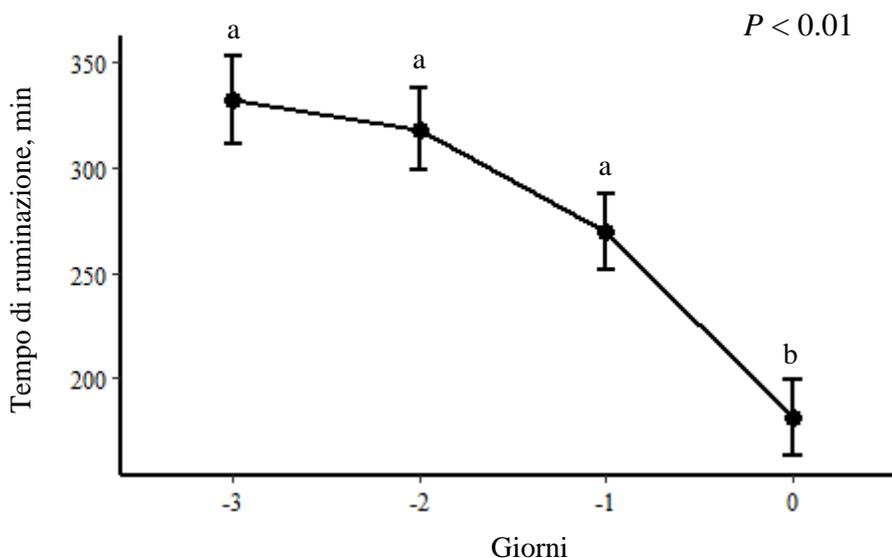
Questa sperimentazione ha aiutato a meglio definire il blocco ruminale, un evento patologico che si riscontra spesso nelle realtà produttive e che ha avuto la più frequente manifestazione in questa sperimentazione. In letteratura non ne esiste una definizione specifica, anche se viene comunemente associato a tutte quelle sindromi digestive e non che comportano un abbassamento, talvolta azzeramento, degli atti ruminativi. Le cause possono essere molteplici, infatti è risaputo che la ruminazione è un marker precoce di malessere da parte del bovino (Stangaferro *et al.*, 2015a, b). Tuttavia, in questa sperimentazione sono stati studiati solamente casi di origine dietetico-nutrizionale sperimentalmente indotti, in particolare per eccesso di concentrati e scarsità di fibre. L'imputazione del blocco ruminale, secondariamente ad un evento di SARA, non può essere affermata con certezza, perché la localizzazione dei boli in sede prevalentemente reticolare non ha permesso di rilevare elementi oggettivi scaturiti dalle fluttuazioni del pH.

Il blocco ruminale può essere quindi definito come quella sindrome multicausale che porta alla diminuzione del tempo di ruminazione giornaliero a meno di 200 minuti, soglia minima di ruminazione in grado di mantenere la funzionalità del rumine e le condizioni di salute.

È evidente nella Figura 40 come il calo della ruminazione inizi 2-3 giorni prima del blocco vero e proprio (giorno 0).

Dalla pratica quotidiana, le conseguenze del blocco ruminale sono un calo dell'ingestione di SS, un rialzo del pH reticolo-ruminale, dovuto alla diminuzione dei substrati fermentescibili e, a seguire, un calo delle produzioni. Le conseguenze del blocco ruminale risultano estremamente penalizzanti per l'economia aziendale dell'azienda da latte.

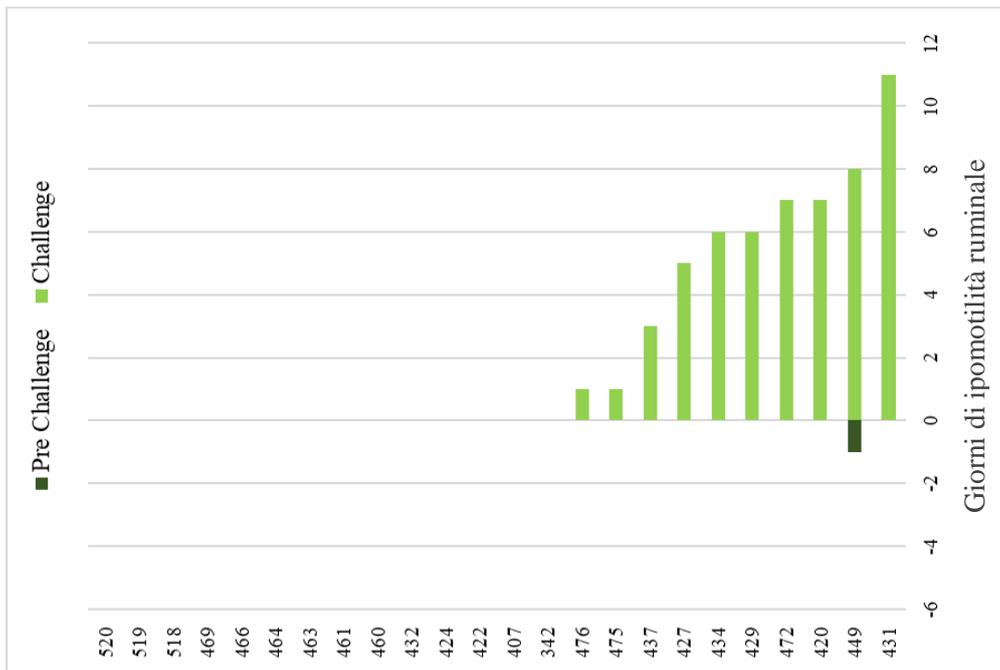
Figura 40. Andamento della ruminazione nei giorni precedenti il blocco ruminale (dati medi dei casi avvenuti durante il Challenge).



SUSCETTIBILITÀ INDIVIDUALE AL CHALLENGE ALIMENTARE

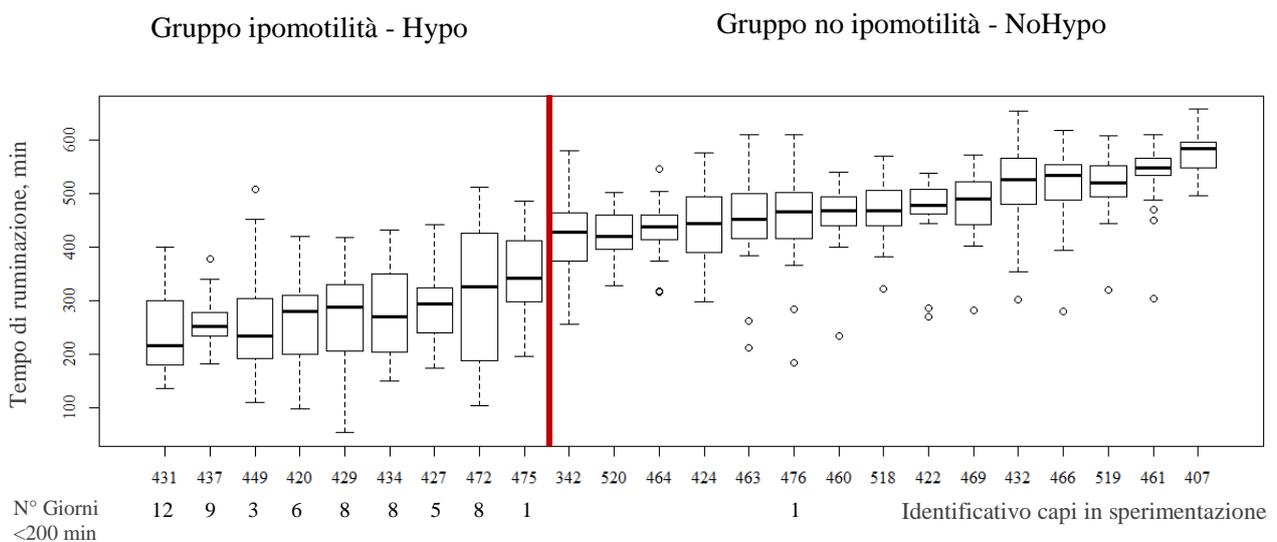
Sulla scia delle precedenti affermazioni, in una seconda fase dell'analisi dei dati raccolti durante la sperimentazione appena descritta, si è voluto studiare la suscettibilità individuale delle bovine a manifestare questa sindrome digestiva. Infatti, come rappresentato nella Figura 41, si può notare come alcuni soggetti entrati in sperimentazione abbiano manifestato il blocco ruminale ed altri no. Inoltre, i blocchi hanno avuto un andamento ricorrente in alcuni soggetti. Queste manifestazioni sono avvenute principalmente dopo la somministrazione della dieta acidogena, estrema per caratteristiche nutrizionali. Si può dunque affermare che lo stress dietetico in associazione a quello ambientale dovuto al cambio di stabulazione siano stati il grilletto che ha permesso la manifestazione dei blocchi in alcuni soggetti. A questo punto il quesito importante è capire cosa rende differenti le bovine che, sottoposte ad una dieta estrema manifestino i blocchi, da quelle che si riescono ad adattare.

Figura 41. Giorni di blocco ruminale nelle bovine in sperimentazione durante le fasi di Pre e Challenge.



Grazie alla cluster analysis è stato possibile dividere i soggetti in base alla ruminazione media, alla sua variabilità giornaliera e all'incidenza di blocchi ruminali (Figura 42). Questo metodo ha permesso di differenziare oggettivamente i soggetti, creando due gruppi che verranno definiti come gruppo suscettibile ai blocchi ruminali o con ipomotilità ruminale (Hypo) e gruppo di soggetti resistenti e maggiormente adattabili (NoHypo).

Figura 42. Ruminazione media e variabilità individuale in relazione all'incidenza di blocchi ruminali (Challenge).



PARAMETRI RUMINALI

TEMPO DI RUMINAZIONE

In Tabella 69 sono riportati i parametri di ruminazione registrati nel corso dell'intera sperimentazione secondo i gruppi Hypo e NoHypo.

La ruminazione media e totale nelle diverse fasi della sperimentazione risulta maggiore nel gruppo NoHypo, risultato quasi scontato visto che il dato è stato utilizzato nella cluster analysis per la suddivisione dei gruppi. L'aspetto più interessante è stato verificare l'entità della differenza e soprattutto la variabilità giornaliera del dato, espressa come deviazione standard, che è risultata maggiore nel gruppo Hypo. Quindi il gruppo a maggiore suscettibilità (Hypo) manifesta una ruminazione media inferiore, anche durante la fase di Pre Challenge in cui la dieta, che ora definiamo essere sicura, ed è caratterizzato da una variabilità maggiore del tempo di ruminazione tra i giorni della prova. Questa variabilità, inoltre, è aumentata nel corso della dieta acidogena, passando da 11.52 in Pre a 18.28 in Challenge. Va sottolineato che il calo della ruminazione dovuto ai fattori stressanti è avvenuto in entrambi i gruppi, ma è stato di maggiore entità nel gruppo Hypo.

Tabella 69. Parametri di ruminazione registrati nel corso della sperimentazione suddivisi secondo i gruppi di suscettibilità.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
Ruminazione, min	513.37	357.65	13.73	<.01
Pre Challenge	545.85	416.01	15.89	<.01
Challenge	479.10	280.04	12.43	<.01
Ruminazione Dev. St., min	60.81	75.71	4.88	<.01
Pre Challenge	56.31	67.83	5.46	<.05
Challenge	65.31	83.59	7.46	<.05
Calo in ruminazione, min (Pre vs Challenge)	65.13	133.75	17.43	<.01

PH RETICOLO-RUMINALE

In Tabella 70 sono riportati i parametri riguardanti il pH reticolo ruminale registrati nel corso dell'intera sperimentazione secondo i gruppi Hypo e NoHypo.

Dai dati è emersa una tendenza del gruppo Hypo ad avere un pH maggiore (+ 0.18 punti, $P < 0.10$) e la differenza, in valore assoluto, in minuti trascorsi sotto i valori soglia di 5.8 e 5.5 è notevole, sebbene non significativa. Ciò porta ad ipotizzare che le bovine soggette ai blocchi ruminali abbiano un pH reticolare mediamente maggiore, che cala per meno minuti sotto i valori soglia; di conseguenza sono meno i giorni in cui possiamo definirle in SARA secondo la definizione di Zebeli *et al.* (2008). Il dato, per certi versi inaspettato, necessita dunque una riflessione sul metodo di rilevazione utilizzato, cioè il bolo reticolare, che presenta il limite di registrare solamente il pH del liquor a livello reticolare. Il liquor reticolare costituisce la frazione liquida pronta a lasciare il rumine tramite lo sfintere reticolo-omasale e mediamente rappresenta la frazione maggiormente digerita del contenuto ruminale. Ciò che accade, quindi, all'interno del rumine rimane tuttora sconosciuto, dal momento che non ci sono i mezzi per monitorarlo. Tuttavia, i dati che quest'analisi offre permettono di mettere in relazione la ruminazione con il pH reticolare; infatti bovine a maggiore ruminazione presentano un pH mediamente più basso. La relazione tra questi due fattori non è del tutto chiarita: se sia la ruminazione a favorire un passaggio più frequente del liquor ricco in acidi grassi dal reticolo o, se sia il pH maggiormente acido a livello ruminale a stimolare positivamente la ruminazione, che aumenta per favorire lo svuotamento.

Tabella 70. pH reticolo-ruminale registrato nel corso della sperimentazione suddiviso secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
pH reticolo-ruminale	5.99	6.17	0.08	<.10
pH <5.8 min/gg	394.73	120.65	113.12	0.12
pH <5.5 min/gg	68.08	12.82	34.54	0.30
pH <5.8 area/gg	71.69	17.55	26.01	0.17
pH <5.5 area/gg	7.38	1.53	4.71	0.40
Giorni di SARA, %	45.09	12.44	0.13	0.12

ASSUNZIONE DI ALIMENTO E COMPORTAMENTO ALIMENTARE

In Tabella 71 e 72 sono riportati i parametri riguardanti l'ingestione di alimento e abbeverata, e il comportamento alimentare registrato nel corso dell'intera sperimentazione secondo i gruppi Hypo e NoHypo. L'ingestione di sostanza secca si è attestata su valori significativamente maggiori nel gruppo NoHypo (+ 2.79 kg/gg, $P < 0.05$), differenza dovuta principalmente all'assunzione di unifeed. Viceversa, il consumo di fieno lungo è risultato presente solo nel gruppo Hypo ed è stato di soli 430 g in media per giorno, dato in linea con quanto riportato nella sperimentazione precedente (in cui è stato di 630 g in media). Va ricordato che la somministrazione di fieno lungo era prevista solo in caso di blocco ruminale.

È interessante vedere come il comportamento alimentare si sia differenziato nei due gruppi di animali. Infatti, il gruppo Hypo ha assunto meno sostanza secca durante la notte (- 2.51 kg, $P < 0.01$) rispetto al gruppo NoHypo, a fronte di un consumo uguale durante il giorno. Esprimendo in percentuale l'assunzione di SS è emerso che il gruppo Hypo ha assunto mediamente il 60% della SS durante il giorno e il 40% di notte, mentre il NoHypo ha avuto una distribuzione del 54% diurno e 46% notturno ($P < 0.10$). Nonostante il risultato mostri solo una tendenza e i valori non siano drasticamente differenti tra loro, questo può indicare delle differenze nella distribuzione giornaliera di assunzione di SS.

L'assunzione dell'acqua di abbeverata ha mostrato il medesimo andamento della SSI vista la forte correlazione che presentano.

Delle differenze sono state riscontrate anche per quanto riguarda i pasti assunti. Il gruppo Hypo ha effettuato in media 0.85 pasti in meno ($P < 0.05$), di cui 0.44 in meno di giorno ($P < 0.01$), con un intake medio maggiore (+ 610 g per pasto, $P < 0.05$) in particolare di giorno (+ 1760 g per pasto, $P < 0.01$). Anche la durata media del pasto è stata maggiore nel gruppo Hypo (+ 2.82 min per pasto, $P < 0.10$), in particolare di giorno (+ 7.06 min per pasto, $P < 0.05$).

Si può dunque sintetizzare che il gruppo di animali che ha sofferto di blocchi ruminali ha assunto meno sostanza secca totale, soprattutto durante la notte e che durante il giorno faceva meno pasti, più lunghi e assumendo più SS per pasto. Seppure le differenze sono state minime in termini quantitativi, rappresentano delle utili indicazioni per capire quali aspetti del comportamento alimentare rendano un gruppo di bovine differente da un altro.

Tabella 71. Intake di alimento e abbeverata, e comportamento alimentare registrato nel corso della sperimentazione suddiviso secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
SSI, kg	26.23	23.44	0.93	<.05
SSI fieno, kg	<.00	0.43	0.06	<.01
SSI unifeed, kg	26.23	23.02	0.94	<.05
SSI diurna, kg	14.19	13.91	0.59	0.65
SSI notturna, kg	12.04	9.53	0.66	<.01
SSI diurna, %	54.04	59.79	1.67	<.10
SSI notturna, %	45.96	40.21	1.67	<.10
Abbeverata, L	152.85	126.36	6.73	0.01
Abbeverata diurna, L	82.64	74.24	3.38	0.13
Abbeverata notturna, L	70.21	52.11	4.20	<.01
Pasti, n°	12.98	12.13	0.50	<.05
Pasti diurni, n°	6.31	5.87	0.20	<.01
Pasti notturni, n°	6.67	6.26	0.31	0.14
Intake medio, %/pasto	7.95	8.56	0.34	<.05
Intake medio diurno, %/pasto	8.97	10.73	0.56	<.01
Intake medio notturno, %/pasto	6.64	7.19	0.23	0.60
Intake medio, kg/pasto	2.07	1.98	0.10	0.99
Intake medio diurno, kg/pasto	2.35	2.48	0.14	0.20
Intake medio notturno, kg/pasto	1.87	1.54	0.08	<.10

Tabella 72. Comportamento alimentare registrato nel corso della sperimentazione suddiviso secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
Durata totale dei pasti, min	338.25	350.56	19.07	0.54
Durata totale dei pasti diurni, min	205.93	230.14	12.63	0.11
Durata totale dei pasti notturni, min	137.97	127.19	9.51	0.42
Durata media pasti, min	27.83	30.65	2.16	<.10
Durata media pasti diurni, min	34.00	41.06	3.03	<.05
Durata media pasti notturni, min	22.35	21.30	1.63	0.88
Intervallo totale tra i pasti, min	1093.10	1087.47	17.51	0.84
Intervallo totale tra i pasti diurni, min	440.94	410.28	11.09	0.21
Intervallo totale tra i pasti notturni, min	644.87	673.89	10.99	0.23
Intervallo medio tra i pasti, min	89.98	96.23	3.89	<.10
Intervallo medio tra i pasti diurni, min	76.70	77.38	3.24	<.05
Intervallo medio tra i pasti notturni, min	103.26	118.15	5.66	0.11

LIQUOR RUMINALE

In Tabella 73 sono riportate le analisi del liquor ruminale suddivise secondo i gruppi Hypo e NoHypo.

Non sono emerse differenze nella produzione totale di AGV, bensì nelle proporzioni degli AGV determinati. Il contenuto di acetato è risultato superiore del 9.29 %/mmol nel gruppo Hypo ($P < 0.01$), risultato in parte spiegabile dal consumo medio di 430 g di fieno lungo, quantità però molto bassa e somministrata solo come evento terapeutico, quindi non necessariamente in concomitanza con il campionamento del liquor ruminale. Di pari passo anche il proprionato è risultato inferiore nel gruppo Hypo (-11.41 %/mmol, $P < 0.01$). Il butirrato (iso e nor), come anche l'iso-valerato sono risultati più elevati nel gruppo Hypo, mentre il nor-valerato nel gruppo NoHypo.

Lattati (levogiro e destrogiro) sono stati maggiori in termini assoluti, ma non significativamente nel gruppo NoHypo, dati quest'ultimi in linea con quelli del pH registrato.

Infine, i valori di ammoniaca registrati erano significativamente maggiori nel gruppo Hypo (+2.64 mg/dl, $P < 0.05$).

Tutti questi dati fanno capire come, oltre alle modificazioni alimentari, si siano registrate modificazioni anche a livello fermentativo ruminale, il che potrebbe far presupporre che in queste due popolazioni di bovini anche il microbiota ruminale possa aver avuto delle differenze sostanziali.

Tabella 73. Analisi del liquor ruminale secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
AGV totali, mmol/l	104.66	106.07	4.49	0.83
Acetato, %/mmol	49.63	58.92	1.34	<.01
Propionato, %/mmol	37.74	26.33	1.63	<.01
IsoButirrato, %/mmol	0.34	0.71	0.06	<.01
NorButirrato, %/mmol	10.07	11.88	0.46	0.01
IsoValeriato, %/mmol	0.92	1.32	0.10	<.01
NorValeriato, %/mmol	1.31	0.84	0.14	<.05
L-Lattato, mg/l	159.20	138.89	18.46	0.45
D-Lattati, mg/l	176.21	142.42	31.84	0.47
NH ₃ , mg/dl	6.85	9.49	0.79	<.05

PRODUZIONE QUANTI-QUALITATIVA DI LATTE

In Tabella 74 sono riportati i parametri qualitativi registrati nel corso dell'intera sperimentazione secondo i gruppi Hypo e NoHypo.

La produzione latte è risultata notevolmente maggiore nel gruppo NoHypo (+ 7 kg in media, $P < 0.05$), dato atteso vista l'assenza di eventi patologici e la maggiore ingestione di SS. La percentuale di grasso è stata, al

contrario, inferiore (2.48 vs 3.77 % in NoHypo e Hypo rispettivamente, $P < 0.01$), mentre la proteina e il lattosio non hanno subito variazioni tra i due gruppi. Al calcolo del latte ECM e FCM però non sono emerse differenze, perciò in termini quanti-qualitativi le produzioni dei due gruppi sono risultate sovrapponibili. La concentrazione di urea nel latte è risultata maggiore nel gruppo Hypo (+ 5.72 mg/dl, $P = 0.01$), in linea con i dati raccolti a livello ruminale.

Tabella 74. Produzione quanti-qualitativa registrata nel corso della sperimentazione suddivisa secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
Latte, kg	43.73	36.78	2.51	<.05
Grasso, %	2.48	3.77	0.11	<.01
Proteina, %	3.22	3.21	0.06	0.51
Grasso/Proteina	0.77	1.17	0.03	<.01
Lattosio, %	4.99	5.09	0.03	0.15
ECM, kg/d	35.14	35.12	2.00	0.39
FCM 4%, kg/d	26.98	34.07	1.72	0.38
Urea, mg/dl	9.24	14.96	0.88	0.01

COMPOSIZIONE DELLE FECI E DIGERIBILITÀ DELLA FIBRA

In Tabella 75 sono riportate la composizione delle feci e la digeribilità apparente della fibra registrate nel corso dell'intera sperimentazione secondo i gruppi Hypo e NoHypo.

Per quanto riguarda la composizione fecale sono state numerose le differenze significative; dal punto di vista biologico le più importanti riguardano la quantità di amidi e la digeribilità apparente della fibra.

È stato registrato un maggior contenuto di amidi nelle feci del gruppo NoHypo (+ 0.25 %, $P < 0.01$), dato atteso considerata la maggiore SSI e il maggior turnover ruminale ipotizzato, che porterebbe ad un più frequente dilavamento del liquor con una maggiore quota di amido escape. Di fatto si ipotizza che un maggior tempo di ruminazione, conseguente o meno alla maggior ingestione, favorisca il dilavamento ruminale e la

fuoriuscita del particolato fine, tra cui l'amido e la fibra già fermentata. I valori inferiori in TTpdNDFD del gruppo NoHypo (- 1.66 %, $P < 0.01$) è un risultato in linea con quanto appena affermato, seppur in entrambi i gruppi la digeribilità della fibra si sia attestata su livelli superiori rispetto alla prova precedente.

Tabella 75. Composizione fecale e digeribilità della fibra registrate nel corso della sperimentazione secondo i gruppi di suscettibilità durante il Challenge.

Parametro	NoHypo	Hypo	SEM	<i>P</i>
SS	13.10	12.40	0.23	<.05
aNDFom, %SS	59.56	57.70	0.39	<.01
ADF, %SS	41.06	40.93	0.33	0.79
ADL, %SS	14.48	15.60	0.16	<.01
PG, %SS	13.92	14.77	0.19	<.01
Ceneri, %SS	10.09	10.83	0.16	<.01
Amido, %SS	2.51	2.26	0.06	<.01
dNDFom24h, %SS	12.16	10.06	0.25	<.01
dNDF240h, %SS	43.36	39.30	0.53	<.01
uNDFom240h, %SS	31.67	33.21	0.42	<.01
pdNDF, %SS	27.89	24.46	0.34	<.01
TTD ¹ , %pdNDF	87.79	89.45	0.41	<.01

¹ Total Tract Digestibility

2.3.6 CONCLUSIONI

I risultati ottenuti in questa sperimentazione hanno evidenziato che una dieta pro-acidogena, caratterizzata da un alto livello di concentrati (rapporto foraggi:concentrati pari a 25:75) e da un basso contenuto di fibra, può portare a significative modificazioni nella fisiologia di bovine lattifere ad elevata produzione.

Nell'interpretazione dei dati ottenuti da questa sperimentazione vanno considerate le condizioni di stabulazione fissa controllata, l'assenza di competizione e di gerarchia tra gli animali; non è possibile quindi paragonare i risultati ottenuti nella sperimentazione alla realtà di allevamento, ma se ne possono trarre importanti indicazioni.

Le maggiori modificazioni determinate dalla dieta hanno riguardato i tempi di ruminazione, che hanno subito una drastica diminuzione (494 vs 403 min, periodi Pre e Challenge rispettivamente, $P < 0.01$) e il tempo in cui il pH ruminale è sceso al di sotto dei valori soglia: aumento dei minuti sotto 5.8 (290 vs 305 min, periodi Pre e Challenge rispettivamente, $P < 0.01$) e sotto 5.5 (34 vs 53 min, periodi Pre e Challenge rispettivamente, $P < 0.01$), confermando lo stato di sub-acidosi ruminale (Zebeli, 2012a), ma non quello di acidosi, come ci si poteva aspettare dal tipo di dieta.

Gli animali ad alta produzione utilizzati erano, senza dubbio, ben adattati a regimi alimentari molto ricchi in concentrati, regimi che sempre più spesso si riscontrano nella realtà produttiva al fine di massimizzare le produzioni. In questa sperimentazione, infatti, gli animali hanno mantenuto elevati livelli produttivi, nonostante il calo dovuto dallo stress alimentare e gestionale (43 vs 41 kg, periodi Pre e Challenge rispettivamente), con un forte calo della materia grassa del latte (3.42 vs 2.72, %, tempi C0 e C21 Pre e Challenge rispettivamente, $P < 0.01$).

La produzione in AGV ha subito modificazioni sostanziali; sono state riscontrate modificazioni a livello di liquor ruminale con incremento del propionato ($P < 0.01$) e dell'acetato ($P < 0.01$), prodotte dalla modificazione della dieta e un decremento dell'azoto ammoniacale ($P < 0.01$).

Queste modificazioni si sono riflesse sulla composizione degli acidi grassi del latte, con un incremento degli acidi grassi di neoformazione e di formazione mista (in particolare di C12, C14 e C16) ed una diminuzione di quelli preformati (in particolare di C18 e C20) e dei CLA ($P < 0.01$), in particolare del cis9,trans11.

Al contrario delle aspettative, il microbiota ruminale ha mantenuto una buona funzionalità, caratterizzata anche dall'incremento della digeribilità della fibra rilevata in periodo di Challenge (74 vs 90 prima e durante il Challenge rispettivamente, $P < 0.01$). Questo costituisce un aspetto del tutto inedito.

Le manifestazioni patologiche secondarie alla dieta hanno riguardato principalmente un drastico calo della ruminazione, principalmente in un gruppo di soggetti, che hanno manifestato dei blocchi ruminali (ruminazione giornaliera < 200 minuti), risolti con l'aggiunta di fibra lunga alla dieta (430 g consumati al giorno in media). Questi eventi hanno permesso di individuare due popolazioni distinte, una formata da soggetti più sensibili alla dieta ricca in concentrati e una seconda resistente/resiliente.

Studiando le diversità di queste due popolazioni è emerso che si possono differenziare, oltre che per il valore di ruminazione media (inferiore nei soggetti con ipomotilità), anche per una maggiore deviazione standard (68 min/giorno, $P < 0.05$) in assenza di condizioni di stress dietetico, valore che in una realtà commerciale si ipotizza possa essere usato come marker per identificare i soggetti a maggior rischio.

I soggetti sensibili si sono distinti anche nel comportamento alimentare; si sono caratterizzati per una minore assunzione di SS (- 3 kg, $P < 0.05$) e abbeverata ($P < 0.01$) durante le ore notturne e, durante le ore diurne, per una maggiore assunzione percentuale di SS (60 vs 54 %, $P < 0.10$), per aver effettuato circa un pasto in meno al giorno, con una maggiore ingestione media per pasto (+ 1.76 %, $P < 0.01$) e una maggiore durata media (+ 7 minuti, $P < 0.05$).

Anche le fermentazioni ruminali del gruppo sensibile rispetto a quello resistente hanno subito una variazione, risultata in una maggiore produzione in acetato, butirrato e iso-valerato, ed in una minore efficienza di utilizzazione dell'azoto con livelli maggiori di ammoniaca ruminale (+ 2.64 mg/dl, $P < 0.05$) e urea nel latte (+ 5.72 mg/dl, $P = 0.01$).

Tutte queste differenze hanno determinato nel gruppo sensibile alla dieta una minore produzione di latte (- 7 kg, $P < 0.05$), ma un maggiore contenuto in grasso (+ 1.29%, $P < 0.01$) che al calcolo del latte ECM non differiscono.

In conclusione, è possibile affermare che la sperimentazione ha permesso di individuare differenti risposte in bovine alimentate con la stessa dieta ad elevato contenuto in concentrati, con la possibilità di differenziare, grazie all'analisi dei pattern ruminativi, le popolazioni in base alla suscettibilità, individuando i soggetti a rischio caratterizzati da una bassa ruminazione media (~ 400 min/gg) con alta deviazione standard (~ 70 min/gg). Questi parametri potrebbero entrare a far parte di un nuovo indice utile a identificare i soggetti con maggior rischio di soffrire di problemi digestivi causati da squilibri dietetici.

3. CONSIDERAZIONI FINALI

Le due prove sperimentali condotte hanno consentito l'acquisizione di una consistente quantità di dati ed informazioni, grazie a sistemi tecnologici, come i collari ruminometri, già presenti in commercio e largamente diffusi, i boli reticolari di misurazione del pH, prettamente di uso sperimentale, oppure le mangiatoie dotate di sensori per lo studio del comportamento alimentare. Questo flusso di informazioni rende sempre più necessario la messa a punto di modelli matematici e competenze professionali che ne permettano la gestione.

Le modalità di somministrazione della razione influenzano notevolmente il comportamento alimentare, ruminale e di conseguenza il pH. La costanza nella pratica quotidiana è fondamentale e le bovine presentano una spiccata capacità all'adattamento, ma la variabilità apportata dagli errori nella gestione può diventare una grande problematica in azienda.

In quest'ottica lo sviluppo e l'introduzione di sistemi rapidi di monitoraggio in linea della preparazione del carro unifeed è alquanto auspicata.

Inoltre, la pratica consolidata nel sapere contadino della somministrazione del fieno lungo in mangiatoia, trova conferma con questa sperimentazione nel suo effetto di mitigare gli squilibri ruminali provocati da diete eccessivamente spinte o da errori nella preparazione dell'unifeed.

Elevate sono le differenze individuali tra i capi in allevamento, differenze che in condizioni estreme si magnificano e hanno permesso di individuare i soggetti più a rischio. Lo studio di queste differenze ha importanti risvolti pratici nella gestione quotidiana della mandria e apre le porte all'inclusione di nuovi indici di selezione dei capi più resistenti.

Su questi e altri temi che interessano la nutrizione e il management della bovina da latte è necessario un focus particolare da parte del mondo accademico e della ricerca per favorire l'ampliamento delle conoscenze e la crescita di nuove figure professionali.

BIBLIOGRAFIA

Albornoz, R. I., J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013. Moderate decreases in the forage-to-concentrate ratio before feed restriction and increases thereafter independently improve the recovery from a feed restriction insult in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 91:4739–4749.

Albright, J. L. 1993. Feeding behavior of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76:485–498.

Allen, M. S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* 80:1447–1462.

AlZahal, O., E. Kebreab, J. France, M. Froetschel, and B. W. McBride. 2008. Ruminant temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis. *J. Dairy Sci.* 91:202–207.

Ambriz-Vilchis, V., N. S. Jessop, R. H. Fawcett, D. J. Shaw, and A. I. Macrae. 2015. Comparison of rumination activity measured using rumination collars against direct visual observations and analysis of video recordings of dairy cows in commercial farm environments. *J. Dairy Sci.* 98:1750–1758.

AOAC International. 2016. *Official Methods of Analysis*. 20th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Aschenbach, J. R., S. Bilk, G. Tadesse, F. Stumpff, and G. Gäbel. 2009. Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to nondiffusive apical uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 296:G1098–G1107.

Aschenbach, J. R., N. B. Kristensen, S. S. Donkin, H. M. Hammon, and G. B. Penner. 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life* 62:869–877.

Aschenbach, J. R., G. B. Penner, F. Stumpff, and G. Gäbel. 2011. Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *J. Anim. Sci.* 89:1092–1107.

Ash, R. W., and R. N. Kay. 1959. Stimulation and inhibition of reticulum contractions, rumination and parotid secretion from the forestomach of conscious sheep. *J. Physiol.* 149:43–57.

Bach, A., C. Iglesias, S. Calsamiglia, and M. Devant. 2007. Effect of amount of concentrate offered in automatic milking systems on milking frequency, feeding behavior, and milk production of dairy cattle consuming high amounts of corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:5049–5055.

Bailey, C. B. 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 3. The rate of secretion of mixed saliva in the cow during eating, with an estimate of the magnitude of the total daily secretion of mixed saliva. *Br. J. Nutr.* 15:443–451.

Bannink, A., W. J. J. Gerrits, J. France, and J. Dijkstra. 2012. Variation in rumen fermentation and the rumen wall during the transition period in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172:80–94.

Barbano, D. 2014. Future use of infrared milk testing in feeding and health management. *Proc., Cornell Nutr. Conf. Feed Manu.* 105–113.

Bareille, N., F. Beaudeau, S. Billon, A. Robert, and P. Faverdin. 2003. Effects of health disorders on feed intake and milk production in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83:53–62.

Bargo, F., L. D. Muller, J. E. Delahoy, and T. W. Cassidy. 2002. Performance of high producing dairy cows with different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2948–2963.

Barkema, H. W., M. A. von Keyserlingk, J. P. Kastelic, T. J. Lam, C. Luby, J. P. Roy, S. J. LeBlanc, G. P. Keefe, and D. F. Kelton. 2015. Invited review: Changes in the dairy industry affecting dairy cattle health and welfare. *J. Dairy Sci.* 98:7426–7445.

Bartlett, P. C., M. Kopcha, P. Coe, N. Ames, P. Ruegg, and R. Erskine. 1995. Economic comparison of the pyloro-omentopexy vs the roll-and-toggle procedure for treatment of left displacement of the abomasum in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206:1156–1162.

Beauchemin K.A., R. G. Kachanoski, G. B. Schaalje, J. G. Buchanan-Smith. 1990. Characterizing rumination patterns of dairy cows using spectral analysis. *J Anim Sci.* 68(10):3163-70.

Beauchemin, K. A. 1991. Ingestion and mastication of feed by dairy cattle. Pages 439–463 in *The Veterinary Clinics of North America: Dairy Nutrition Management*. C. J. Sniffen and T. H. Herdt, ed. Saunders, Philadelphia, PA.

Beauchemin, K. A., and L. Rode. 1994. Compressed baled alfalfa hay for primiparous and multiparous dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1003–1012. doi. 10 .3168/ jds .S0022 -0302(94)77036 -3.

Beauchemin, K. A., B. I. Farr, L. M. Rode, and G. B. Shaalje. 1994. Effects of alfalfa silage chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1326–1339.

Beauchemin, K. A., and L. Rode. 1997. Minimum versus optimum concentrations of fiber in dairy cow diets based on barley silage and concentrates of barley or corn. *J. Dairy Sci.* 80:1629–1639. doi. 10 .3168/ jds .S0022 -0302(97)76094 -6.

Beauchemin, K. A., and W. Yang. 2005. Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. *J. Dairy Sci.* 88:2117–2129.

Beauchemin K. A. 2018. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:4762–4784.

Benninghoff, J., M. Paschke-Beese, and K.-H. Südekum. 2015. In situ and in vitro ruminal degradation of maize grain and untreated or xylose-treated wheat, barley and rye grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 210:86–93.

Bewley, J. M., M. E. Einstein, M. W. Grott, and M. M. Schutz. 2008. Comparison of reticular and rectal core body temperatures in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:4661–4672.

Bhatti, S. A., J. G. Bowman, J. L. Firkins, A. V. Grove, and C. W. Hunt. 2008. Effect of intake level and alfalfa substitution for grass hay on ruminal kinetics of fiber digestion and particle size passage in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86:134–145.

Bowman, G. R., K. Beauchemin, and J. Shelford. 2003. Fibrolytic enzymes and parity effects on feeding behavior, salivation, and ruminal pH of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:565–575.

Bradford, B. J., and C. R. Mullins. 2012. Invited review: Strategies for promoting productivity and health of dairy cattle by feeding nonforage fiber sources. *J. Dairy Sci.* 95:4735–4746.

Bramley, E., I. Lean, W. Fulkerson, M. Stevenson, A. Rabiee, and N. Costa. 2008. The definition of acidosis in dairy herds predominantly fed on pasture and concentrates. *J. Dairy Sci.* 91:308–321.

Büchel, S., and A. Sundrum. 2014. Technical note: Evaluation of a new system for measuring feeding behavior of dairy cows. *Comput. Electron. Agric.* 108:12–16.

Calamari L., N. Soriani, G. Panella, F. Petrera, A. Minuti, E. Trevisi. 2014. Rumination time around calving: An early signal to detect cows at greater risk of disease. *J. Dairy Sci.* 97 :3635–3647.

Calsamiglia, S., A. Ferret, e M. Devant. 2002. Effects of pH and pH Fluctuations on Microbial Fermentation and Nutrient Flow from a Dual-Flow Continuous Culture System. *J. Dairy Sci.* 85, 574-579.

Campling, R. C., and C. A. Morgan. 1981. Eating behaviour of housed dairy cows—A review. *Dairy Sci. Abstr.* 43:57–63.

Cassida, K. A., and M. R. Stokes. 1986. Eating and resting salivation in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69:1282–1292.

Cavallini D., L. M. E. Mammi, A. Palmonari, M. Fustini, A. J. Heinrichs, and A. Formigoni. 2018. Change in feeding strategy affects intake, rumination behavior, and ruminal pH patten in dairy cows. Proceedings of 2018 American Dairy Science Association (ADSA) Annual Meeting. Abstract M232.

Cavallini, D., L. M. E. Mammi, M. Fustini, A. Palmonari, A. J. Heinrichs, and A. Formigoni. 2018. Effects of ad libitum or restricted access to total mixed ration with supplemental long hay on production, intake, and rumination. *J. Dairy Sci.* 101:10922–10928. doi: 10.3168/jds.2018-14770.

Cavallini D., L. Mammi, G. Canestrari, A. Mordenti, A. Pape, M. Miller, R. Grant, A. Palmonari. 2019. Rumination patterns in dairy cows fed high concentrate ration. Proceedings of 23rd Congress of Animal Science and Production Association (ASPA). Abstract O031.

Charmley, E. 2001. Towards improved silage quality—A review. *Can. J. Anim. Sci.* 81:157–168.

Chibisa, G. E., K. A. Beauchemin, and G. B. Penner. 2016. Relative contribution of ruminal buffering systems to pH regulation in feedlot cattle fed either low- or high-forage diets. *Animal* 10:1164–1172.

Christensen, D. A., and M. Fehr. 2000. Eating and feeding behavior of dairy cows: Dietary influences and impact on production. *Adv. Dairy Technol.* 12:257–267.

Church, D. C. 1975. Ingestion and mastication of feed. Pages 46–60 in *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants*. Vol 1. Digestive Physiology. 2nd ed. D. C. Church, ed. O & B Books, Corvallis, OR.

Cistola, D. P., D. M. Small, and J. A. Hamilton. 1982. Ionization behaviour of aqueous short-chain carboxylic acids: A carbon-13 NMR study. *J. Lipid Res.* 23:795–799.

Clément, P., R. Guatteo, L. Delaby, B. Rouillé, A. Chanvallon, J. M. Philipot, and N. Bareille. 2014. Short communication: Added value of rumination time for the prediction of dry matter intake in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:6531–6535. doi: 10 .3168/ jds .2013 -7860.

Cooper, S. D., I. Kyriazakis and J. D. Oldham. 1996. The effects of physical form of feed, carbohydrate source, and inclusion of sodium bicarbonate on the diet selections of sheep. *J. Anim Sci.* 74:1240-1251.

Cooper-Prado, M. J., N. M. Long, E. C. Wright, C. L. Goad, and R. P. Wettemann. 2011. Relationship of ruminal temperature with parturition and estrus of beef cows. *J. Anim. Sci.* 89:1020–1027.

Coppock, C. E. 1987. Supplying the energy and fiber needs of dairy cows from alternate feed sources. *J. Dairy Sci.* 70:1110–1119.

Crossley, R. E., A. Harlander-Matauschek, and T. J. DeVries. 2017. Variability in behavior and production among dairy cows fed under differing levels of competition. *J. Dairy Sci.* 100:3825–3838. doi.org/ 10 .3168/ jds .2016 -12108.

Dado, R. G., and M. S. Allen. 1994. Variation in and relationships among feeding, chewing and drinking variables for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:132– 144.

De Boever, J. L., J. I. Andries, D. L. De Brabander, B. G. Cottyn, and F. X. Buysse. 1990. Chewing activity in ruminants as a measure of its physical structure—A review of factors affecting it. *Anim. Feed Sci. Technol.* 27:281–291. doi. 10 .1016/ 0377-8401(90)90143 -V.

De Mol, R. M., R. M. A. Goselink, J. W. Van Riel, H. M. Knijn, and A. T. M. Van Kneegsel. 2016. The relation between eating time and feed intake of dairy cows. *Proc. Precision Dairy Farming Conf.*

Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands. 387–392. doi. 10.3920/978-90-8686-829-2.

DeVries, T. J., M. A. von Keyserlingk, and D. M. Weary. 2004. Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:1432–1438.

DeVries, T. J., and M. A. von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:625–631.

DeVries, T. J., M. A. von Keyserlingk, and K. A. Beauchemin. 2005. Frequency of feed delivery affects the behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:3553–3562.

DeVries, T. J., K. A. Beauchemin, and M. A. G. von Keyserlingk. 2007. Dietary forage concentration affects the feed sorting behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 5572-5579.

DeVries, T. J., F. Dohme, and K. A. Beauchemin. 2008. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feed sorting. *J. Dairy Sci.* 91:3958–3967.

Dieho, K., A. Bannink, I. A. L. Geurts, J. T. Schonewille, G. Gort, and J. Dijkstra. 2016. Morphological adaptation of rumen papillae during the dry period and early lactation as affected by rate of increase of concentrate allowance. *J. Dairy Sci.* 99:2339–2352.

Dieho, K., J. Dijkstra, G. Klop, J. T. Schonewille, and A. Bannink. 2017. Changes in rumen microbiota composition and in situ degradation kinetics during the dry period and early lactation as affected by rate of increase of concentrate allowance. *J. Dairy Sci.* 100:2695–2710.

Disciplinare di Produzione del Formaggio Parmigiano Reggiano, Gazzetta Ufficiale Unione Europea, 16-04-2009.

Dohme, F., T. DeVries, and K. Beauchemin. 2008. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Ruminal pH. *J. Dairy Sci.* 91:3554–3567.

Duffield, T., J. C. Plaizier, A. Fairfield, R. Bagg, G. Vessie, P. Dick, J. Wilson, J. Aramini, and B. McBride. 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:59–66.

Dulphy, J. P., B. Remond, and M. Theriez. 1979. Ingestive behavior and related activities in ruminants. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants.* 103–122. Proc. 5th Int. Symp. Ruminant Physiology. Y. Ruckebusch and P. Thivend, ed. Springer, Berlin, Germany.

Edwards, J. L., and P. R. Tozer. 2004. Using activity and milk yield as predictors of fresh cow disorders. *J. Dairy Sci.* 87:524–531.

Enemark, J. M. D., G. Peters, and R. J. Jorgensen. 2003. Continuous monitoring of rumen pH—A case study with cattle. *J. Vet. Med. Ser. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50:62–66.

Enemark, J. M. D. 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Vet. J.* 176:32–43.

Erickson, G. E., C. T. Milton, K. C. Fanning, R. J. Cooper, R. S. Swingle, J. C. Parrot, G. Vogel, and T. J. Klopfenstein. 2003. Interaction between bunk management and monensin concentration on finishing performance, feeding behaviour, and ruminal metabolism during an acidosis challenge with feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81:2869–2879.

Espadamala, A., P. Pallares, A. Lago, and N. Silva-del-Rio. 2015. Fresh cow evaluations and treatments on California dairies. *J. Dairy Sci.* 98(E-Suppl. 1):330.

Falk, M., A. Münger, and F. Dohme-Meier. 2016. Technical note: A comparison of reticular and ruminal pH monitored continuously with 2 measurement systems at different weeks of early lactation. *J. Dairy Sci.* 99:1951–1955.

Faverdin, P., J. P. Dulphy, J. B. Coulon, R. Vérité, J. P. Garel, J. Rouel, and B. Marquis. 1991. Substitution of roughage by concentrates for dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 27:137–156.

Ferraretto, L. F., A. C. Fonseca, C. J. Sniffen, A. Formigoni, and R. D. Shaver. 2015. Effect of corn silage hybrids differing in starch and neutral detergent fiber digestibility on lactation performance and total-tract nutrient digestibility by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98(1), 395-405.

Ferrero, F., M. Valledor, and J. Campo. 2014. Screening method for early detection of mastitis in cows. *Measurement* 47:855–860.

Fraser, A.F. and Herchen, H. (1979). The behaviour of liberated livestock. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 5, 95-101.

Fujihara, T. 1981. Eating and rumination behavior in sheep given silage made from the fibrous residue of ladino clover. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* 97, 485-488.

Fustini, M., Palmonari, A., Canestrari, G., and A. Formigoni 2010. Balancing carbohydrates in dry rations for dairy cows. *EAAP Scientific Series*, 127 (1), 301-302.

Fustini, M., A. J. Heinrichs, A. Palmonari, and A. Formigoni. 2016. Farm characteristics and total mixed ration particle size issues on Parmigiano Reggiano farms in Northern Italy. *Prof. Anim. Sci.* 32:869–873.

Fustini, M., A. Palmonari, G. Canestrari, E. Bonfante, L. Mammi, M. T. Pacchioli, G. C. J. Sniffen, R. J. Grant, K. W. Cotanch, and A. Formigoni. 2017. Effect of undigested neutral detergent fiber content of

alfalfa hay on lactating dairy cows: Feeding behavior, fiber digestibility, and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 100:4475–4483.

Gäbel, G., J. R. Aschenbach, and F. Müller. 2002. Transfer of energy substrates across the ruminal epithelium: Implications and limitations. *Anim. Health Res. Rev.* 3:15–30.

Gao, X., and M. Oba. 2014. Relationship of severity of subacute ruminal acidosis to rumen fermentation, chewing activities, sorting behavior, and milk production in lactating dairy cows fed a highgrain diet. *J. Dairy Sci.* 97:3006–3016.

Gáspárdy, A., G. Efrat, A. C. Bajcsy, and S. G. Fekete. 2014. Electronic monitoring of rumination activity as an indicator of health status and production traits in high-yielding dairy cows. *Acta Vet. Hung.* 62:452–462.

Gasteiner, J., M. Fallast, S. Rosenkranz, J. Häusler, K. Schneider, and T. Guggenberger. 2009. Measuring rumen pH and temperature by an indwelling and wireless data transmitting unit and application under different feeding conditions. *Wien. Tierarztl. Monatsschr.* 96:188–194.

Geishauser, T. 1990. Rumen sampling and transfaunation in adult bovines. Berlin, Freie Universität, Zentrum für Audiovisuelle Medien. Accessed Jul 4, 2019. [http:// www.profsproducts.com /English /eng_ruminator_gebrauch_video.htm](http://www.profsproducts.com/English/eng_ruminator_gebrauch_video.htm)

GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie). 2014. Communications of the committee for requirement standards of the society of nutrition physiology: Evaluation of structural effectiveness of mixed rations for dairy cows—Status and perspectives. Pages 165–179. Vol. 23. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, ed. DLG-Verlag, Frankfurt, Germany.

Ghorbani, G. R., D. P. Morgavi, K. A. Beauchemin, e J. A. Z. Leedle. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80, 1977-1985.

González, L. A., X. Manteca, S. Calsamiglia, K. S. Schwartzkopf- Genswein, and A. Ferret. 2012. Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). *Anim. Feed Sci. Technol.* 172:66–79.

Grant, R. J., V. F. Colenbrander and D.R. Mertens. 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. *J. Dairy Sci.* 73, 1823-1833.

Gröhn, Y., and M. Bruss. 1990. Effect of diseases, production, and season on traumatic reticuloperitonitis and ruminal acidosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73:2355–2363.

Gröhn, Y. T., S. W. Eicker, V. Ducrocq, and J. A. Hertl. 1998. Effect of diseases on the culling of Holstein dairy cows in New York State. *J. Dairy Sci.* 81:966–978.

Hafez, E.S.E. and M.F., Bouissou. 1975. The behavior of cattle. In: Hafez, E.S.E. (ed) *The Behaviour of Domestic Animals*, 3rd edn. Baillière Tindall, London, pp. 203-245.

Hancock, J. 1950. Grazing habits of dairy cows in New Zealand. *Empire J. Exp. Agr.* 18, 249-263.

Heinrichs, J., and P. Kononoff. 2002. Evaluating particle size of forages and TMRs using the new Penn State Forage Particle Separator. Pages 1–15.

Heinrichs, A. J. 2013. The Penn State Particle Separator. DSE 2013–186. Accessed Jan 5, 2018. <https://extension.psu.edu/penn-state-particle-separator>.

Hicks, L. C., W. S. Hicks, R. A. Bucklin, J. K. Shearer, D. R. Bray, P. Soto, and V. Carvalho. 2001. Comparison of methods of measuring deep body temperature of dairy cows. Pages 432–438 in 6th International Symposium. Am. Soc. Agric. Eng., Louisville, KY.

Hills, J. L., W. J. Wales, F. R. Dunshea, S. C. Garcia, and J. R. Roche. 2015. Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:1363–1401.

Ho, C. K. M., B. Malcom, and P. T. Doyle. 2013. Potential impacts of negative associative effects between concentrate supplements, pasture and conserved forage for milk production and dairy farm profit. *Anim. Prod. Sci.* 53:437–452.

Hosseinkhani, A., T. J. DeVries, K. L. Proudfoot, R. Valizadeh, D. M. Veira, and M. A. von Keyserlingk. 2008. The effects of feed bunk competition on the feed sorting behavior of close-up dry cows. *J. Dairy Sci.* 91:1115–1121.

Humer, E., A. Khol-Parisini, L. Gruber, J. Gasteiner, Sh. M. Abdel-Raheem, and Q. Zebeli. 2015a. Long-term reticuloruminal pH dynamics and markers of liver health in early-lactating cows fed diets differing in grain processing. *J. Dairy Sci.* 98:6433–6448.

Humer, E., K. Ghareeb, H. Harder, E. Mickdam, A. Khol-Parisini, and Q. Zebeli. 2015b. Periparturient changes in reticuloruminal pH and temperature in dairy cows differing in the susceptibility to subacute rumen acidosis. *J. Dairy Sci.* 98:8788–8799.

Humer, H, R. M. Petri, J. R. Aschenbach, B. J. Bradford, G. B. Penner, M. Tafaj, K.-H. Südekum, and Q. Zebeli. 2018. Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 101:872–888.

Huzzey, J. M., T. J. DeVries, P. Valois, and M. A. von Keyserlingk. 2006. Stocking density and feed barrier design affect the feeding and social behavior of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:126–133.

Ingvarstsen, K. L. 2006. Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:175–213.

Jaynes, L. 2015. Compact TMR from Denmark. Accessed Sep. 6, 2017. <http://www.progressivedairy.com/topics/feed-nutrition/compact-tmr-from-denmark>.

Jensen, L. M., B. Markussen, N. I. Nielsen, E. Nadeau, M. R. Weisbjerg, and P. Nørgaard. 2016. Description and evaluation of a net energy intake model as a function of dietary chewing index. *J. Dairy Sci.* 99:8699–8715. doi: 10.3168/jds.2015-10389.

Jiang, F. G., X. Y. Lin, Z. G. Yan, Z. Y. Hu, G. M. Liu, Y. D. Sun, X. W. Liu, and Z. H. Wang. 2017. Effect of dietary roughage level on chewing activity, ruminal pH, and saliva secretion in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 100:2660–2671.

Kaneene, J. B., and H. S. Hurd. 1990. The national animal health monitoring system in Michigan. III. Cost estimates of selected dairy cattle diseases. *Prev. Vet. Med.* 8:127–140.

Kaufman, E. I., V. H. Asselstine, S. J. LeBlanc, T. F. Duffield, and T. J. DeVries. 2018. Association of rumination time and health status with milk yield and composition in early-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:462–471. doi: 10.3168/jds.2017-12909.

Keunen, J. E., J. C. Plaizier, L. Kyriazakis, T. F. Duffield, T. M. Widowski, M. I. Lindinger, and B. W. McBride. 2002. Effects of a subacute ruminal acidosis model on the diet selection of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3304–3313.

Khafipour, E., D.O. Krause, and J.C. Plaizier. 2009a. Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. *J. Dairy Sci.* 92:1712–1724. doi:10.3168/jds.2008-1656.

Khafipour, E., S. Li, C. Plaizier, and D. O. Krause. 2009b. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:7115–7124.

Khan, N. A., P. Yu, M. Ali, J. W. Cone, and W. H. Hendriks. 2015. Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. *J. Sci. Food Agric.* 95:238–252.

Kim, B. G., and H. H. Stein. 2009. A spreadsheet program for making a balanced Latin square design. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(4), 591-596.

King, M. T. M., R. E. Crossley, and T. J. DeVries. 2016. Impact of timing of feed delivery on the behavior and productivity of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:1471–1482. doi. 10.3168/jds.2015-9790.

King, M. T. M. and T. J. DeVries. 2018. Graduate Student Literature Review: Detecting health disorders using data from automatic milking systems and associated technologies. *J. Dairy Sci.* 101:1–10 doi. 10.3168/jds.2018-14521.

Kleefisch, M. T., Q. Zebeli, E. Humer, I. Kröger, P. Ertl, and F. Klevenhusen. 2017. Effects of the replacement of concentrate and fibre-rich hay by high-quality hay on chewing, rumination and nutrient digestibility in non-lactating Holstein cows. *Arch. Anim. Nutr.* 71:21–36.

Kleen, J. L., G. A. Hooijer, J. Rehage, and J. P. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50:406–414.

Klevenhusen, F., P. Pourazad, S. U. Wetzels, M. Kumar, A. Khol-Parisini, and Q. Zebeli. 2014. Technical note: Evaluation of a real-time wireless pH measurement system relative to intraruminal differences of digesta in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 92:5635–5639.

Kmicikewycz, A. D., and A. J. Heinrichs. 2014. Feeding lactating dairy cattle long hay separate from the total mixed ration can maintain dry matter intake during incidents of low rumen pH. *J. Dairy Sci.* 97:7175–7184.

Kmicikewycz, A. D., K. J. Harvatine, and A. J. Heinrichs. 2015. Effects of corn silage particle size, supplemental hay, and forage to-concentrate ratio on rumen pH, feed preference, and milk fat profile of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:4850–4868.

Kohn, R. A., and T. F. Dunlap. 1998. Calculation of the buffering capacity of bicarbonate in the rumen and in vitro. *J. Anim. Sci.* 76:1702–1709.

Kononoff, J. G., and I. K. McAllister. 1970. The circadian rhythm of rumination. *J. agric. Sci., Camb.* 74, 291-297

Kononoff, P. J., A. J. Heinrichs, and D. R. Buckmaster. 2003a. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *J. Dairy Sci.* 86:1858–1863.

Kononoff, P. J., A. J. Heinrichs, and H. A. Lehman. 2003b. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3343–3353.

Kowsar, R., G. R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash, and A. Nikkhah. 2008. Corn silage partially replacing short alfalfa hay to optimize forage use in total mixed rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 91:4755–4764. doi. 10.3168/jds.2008-1302.

Krause, K. M., and G. R. Oetzel. 2005. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:3633–3639.

Krause, K. M., and G. R. Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:215–236.

Kröger, I., E. Humer, V. Neubauer, N. Kraft, P. Ertl, and Q. Zebeli. 2016. Validation of a noseband sensor system for monitoring ruminating activity in cows under different feeding regimens. *Livest. Sci.* 193:118–122.

Kröger, I., E. Humer, V. Neubauer, N. Reisinger, S. Adytia, and Q. Zebeli. 2017. Modulation of chewing behavior and reticular pH in non-lactating cows challenged with concentrate-rich diets supplemented with phytogenic compounds and autolyzed yeast. *J. Dairy Sci.* 100:9702–9714. doi. 10 .3168/ jds .2017 - 12755.

Lacy-Hulbert, S. J., Woolford, M. W., Nicholas, G. D., Prosser, C. G., and K. Stelwagen. 1999. Effect of milking frequency and pasture intake on milk yield and composition of late lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 82(6), 1232-1239.

Lammers, B. P., D. Buckmaster, and A. Heinrichs. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79:922–928.

Lanzas, C., C. J. Sniffen, S. al Seo, L. O. Tedeschi, and D. G. Fox. 2007. A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136:167–190.

LeBlanc, S. 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56:S29–35.

Leek, B. F. 1986. Sensory receptors in the ruminant alimentary tract. Pages 3–17 in *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants: Proceedings of the Sixth International Symposium on Ruminant Physiology*. L. P. Milligan, W. L. Grovum, and A. Dobson, ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Leonardi, C., and L. Armentano. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:557–564.

Leonardi, C., F. Giannico, and L. E. Armentano. 2005. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88:1043–1049.

Liboreiro, D. N., K. S. Machado, P. R. Silva, M. M. Maturana, T. K. Nishimura, A. P. Brandao, M. I. Endres, and R. C. Chebel. 2015. Characterization of peripartum rumination and activity of cows diagnosed with metabolic and uterine diseases. *J. Dairy Sci.* 98:6812–6827.

Lindgren, E. 2009. Validation of rumination measurement equipment and the role of rumination in dairy cow time budgets. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Animal Nutrition and Management, Uppsala.

- Lukas, J. M., J. Reneau, R. Wallace, and A. DeVries. 2015. A study of methods for evaluating the success of the transition period in early-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:250–262.
- Lüscher, A., I. Mueller-Harvey, J. F. Soussana, R. M. Rees, and J. L. Peyraud. 2014. Potential of legume-based grassland-livestock systems in Europe: A review. *Grass Forage Sci.* 69:206–228.
- Macmillan, K., X. Gao, and M. Oba. 2017. Increased feeding frequency increased milk fat yield and may reduce the severity of subacute ruminal acidosis in higher-risk cows. *J. Dairy Sci.* 100:1045–1054.
- Maekawa, M., K. Beauchemin, and D. Christensen. 2002. Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:1165–1175.
- Matthé, A., P. Lebzien, I. Hric, G. Flachowsky, and A. Sommer. 2001. Effect of starch application into the proximal duodenum of ruminants on starch digestibility in the small and total intestine. *Arch. Tierernähr.* 55:351–369.
- Maulfair, D.D., G.I. Zanton, M. Fustini, and A.J. Heinrichs. 2010. Effect of feed sorting on chewing behavior, production, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:4791–4803.
- Maulfair, D. D. Fustini M. and Heinrichs. A. J. 2011. Effect of varying total mixed ration particle size on rumen digesta and fecal particle size and digestibility in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 :3527–3536 doi: 10.3168/jds.2010-3718.
- Maulfair, D. D., K. K. McIntyre, and A. J. Heinrichs. 2013. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:6610–6620.
- McArt, J. A., D. V. Nydam, and G. R. Oetzel. 2012. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:5056–5066.
- McCann, J. C., T. A. Wickersham, and J. J. Looor. 2014. Rumen microbiome and its relationship with nutrition and metabolism. *Bioinform. Biol. Insights* 8:109–125.
- Mertens, D. R. 1977. Dietary fiber components: Relationship to the rate and extent of ruminal digestion. *Fed. Proc.* 36:187–192.
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463–1481.
- Mertens, D. R., M. Allen, J. Carmany, J. Clegg, A. Davidowicz, M. Drouches, K. Frank, D. Gambin, M. Garkie, B. Gildemeister, D. Jeffress, C. S. Jeon, D. Jones, D. Kaplan, G. N. Kim, S. Kobata, D. Main, X. Moua, B. Paul, J. Robertson, D. Taysom, N. Thiex, J. Williams, and M. Wolf. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles. *J. AOAC Int.* 85:1217-1240.

Miller-Cushon, E. K., and T. J. DeVries. 2017. Short communication: Associations between feed push-up frequency, feeding and lying behavior, and milk yield and composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:2213–2218. doi. 10.3168/jds.2016-12004.

Munksgaard, L., M. B. Jensen, L. J. Pedersen, S. W. Hansen, and L. Matthews. 2005. Quantifying behavioural priorities—Effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos taurus*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 93:3–14.

Nasrollahi, S. M., A. Zali, G. R. Ghorbani, M. Moradi Shahrababak, M. Heydari Soltan Abadi, and L. A. Krueger. 2017. Variability in the susceptibility to acidosis among high producing mid-lactation dairy cows is associated with rumen pH, fermentation, feed intake, sorting activity, and milk fat percentage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 228:72–82.

Nordlund, K., E. Garrett, and G. Oetzel. 1995. Herd-based ruminocentesis— A clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 17:48–56.

NRC, National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Oelberg, T. J., and W. Stone. 2014. Monitoring total mixed rations and feed delivery systems. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 30:721–744.

Oetzel, G. R. 2000. Clinical aspects of ruminal acidosis in dairy cattle. Pages 46–53 in *Proc. 33rd Annu. Conv. Am. Assoc. Bovine Pract.*, Rapid City, IA. Am. Assoc. Bovine Pract., Auburn, AL.

Oetzel, G. R. 2007. Subacute ruminal acidosis in dairy herds: Physiology, pathophysiology, milk fat responses and nutritional management. Pages 89–119 in *Am. Assoc. Bovine Pract. 40th Annual Conf.*, Vancouver, BC, Canada. University of Wisconsin, Madison.

Offner, A., A. Bach, and D. Sauvant. 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106:81–93.

Owens, F. N., D. R. Gill, D. S. Secrest, and S. W. Coleman. 1995. Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 73:3152–3172.

Palmonari, A., M. Stevenson, D. M. Mertens, D. R. Cruywagen C. W., and P. J Weimer. 2010. pH dynamics and bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93 :279–287.

Palmonari A., M. Fustini, G. Canestrari, E. Grilli. and A. Formigoni. 2014. Influence of maturity on alfalfa hay nutritional fractions and indigestible fiber content. *J. Dairy Sci.* 97:7729–7734.

Palmonari, A., A. Gallo, M. Fustini, G. Canestrari, F. Masoero, C. J. Sniffen, and A. Formigoni. 2016. Estimation of the indigestible fiber in different forage types. *J. Anim. Sci.* 94:248–254.

Palmonari, A., G. Canestrari, E. Bonfante, M. Fustini, L. Mammi, and A. Formigoni. 2017. Technical note: In vitro digestibility of amylase-treated, ash-corrected neutral detergent fiber, with addition of sodium sulfite, at 240 hours with or without rumen fluid reinoculation. *J. Dairy Sci.* 100:1200–1202.

Paton, L. J., K. A. Beauchemin, D. M. Veira and M. A. G. Von Keyserlingk. 2006. Use of sodium bicarbonate, offered free choice or blended into the ration, to reduce the risk of ruminal acidosis in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86(3): 429-437. doi: 10.4141/A06-014.

Paudyal S., F. Maunsell, J. Richeson, C. Risco, A. Donovan, P. Pinedo. 2016. Periparturient rumination dynamics and health status in cows calving in hot and cool seasons. *J. Dairy Sci.* 99(11):9057-9068. doi: 10.3168/jds.2016-11203.

Pearce, G.R. and R.J. Moir. 1964. Rumination in sheep. I. The influence of rumination and grinding upon the passage and digestion of food. *Australian Journal of Agricultural Research* 15, 635-644.

Penner, G. B., K. Beauchemin, and T. Mutsvangwa. 2007. Severity of ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 90:365–375.

Penner, G. B., J. R. Aschenbach, G. Gäbel, R. Rackwitz, and M. Oba. 2009. Epithelial capacity for apical uptake of short chain fatty acids is a key determinant for intraruminal pH and the susceptibility to subacute ruminal acidosis in sheep. *J. Nutr.* 139:1714–1720.

Penner, G. B., M. A. Steele, J. R. Aschenbach, and B. W. McBride. 2011. Ruminant Nutrition Symposium: Molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. *J. Anim. Sci.* 89:1108–1119.

Pinedo, P. J., A. DeVries, and D. W. Webb. 2010. Dynamics of culling risk with disposal codes reported by Dairy Herd Improvement dairy herds. *J. Dairy Sci.* 93:2250–2261.

Plaizier, J. C., D. O. Krause, G. N. Gozho, and B. W. McBride. 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.* 176:21–31.

Pourazad, P., R. Khiaosa-ard, M. Kumar, S. Wetzels, F. Klevenhusen, B. Metzler-Zebeli, and Q. Zebeli. 2016. Transient feeding of a concentrate-rich diet increases the severity of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 94:726–738.

Prendiville, D. J., J. Lowe, B. Earley, C. Spahr, and P. Kettlewell. 2002. Radiotelemetry systems for measuring body temperature. Grange Research Centre, Dunsany, Ireland.

Proudfoot, K. L., D. M. Veira, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2009. Competition at the feed bunk changes the feeding, standing, and social behavior of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3116–3123. doi. 10.3168/jds.2008-1718.

Kumar, M., R. Khiaosa-ard, F. Pourazad, S. Wetzels, F. Klevenhusen, W. Kandler, J. Aschenbach, and Q. Zebeli. 2016. Evidence of in vivo absorption of lactate and modulation of short chain fatty acid absorption from the reticulorumen of non-lactating cattle fed high concentrate diets. *PLoS One* 11:e0164192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164192>.

Raizman, E. A., and J. Santos. 2002. The effect of left displacement of abomasum corrected by toggle-pin suture on lactation, reproduction, and health of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:1157–1164.

Ribeiro, E. S., F. Lima, L. Greco, R. Bisinotto, A. Monteiro, M. Favoreto, H. Ayres, R. Marsola, N. Martinez, and W. Thatcher. 2013. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96:5682–5697.

Rioja-Lang, F. C., D. J. Roberts, S. D. Healy, A. B. Lawrence, and M. J. Haskell. 2012. Dairy cow feeding space requirements assessed in a Y-maze choice test. *J. Dairy Sci.* 95:3954–3960.

Risco, C., and P. Melendez Retamal. 2011. *Dairy Production Medicine*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.

Ruckebusch, Y. 1988. Motility of the gastro-intestinal tract. Pages 64–107 in *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. D. C. Church, ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Rutter, S.M., R. J. Orr, N. H. Yarrow, and R.A. Champion. 2004. Dietary preference of dairy cows grazing ryegrass and white clover. *J. Dairy Sci.* 87:1317-1324.

Rutten, C. J., A. Velthuis, W. Steeneveld, and H. Hogeveen. 2013. Invited review: Sensors to support health management on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 96:1928–1952.

Salfer, I.J., M.C. Morelli, Y. Ying, M.S. Allen, and K.J. Harvatine. 2018. The effects of source and concentration of dietary fiber, starch, and fatty acids on the daily patterns of feed intake, rumination, and rumen pH in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:10911–10921.

Sato, S., A. Kimura, T. Anan, N. Yamagishi, K. Okada, H. Mizuguchi, and K. Ito. 2012a. A radio transmission pH measurement system for continuous evaluation of fluid pH in the rumen of cows. *Vet. Res. Commun.* 36:85–89.

Sato, S., A. Ikeda, Y. Tsuchiya, K. Ikuta, I. Murayama, M. Kanehira, K. Okada, and H. Mizuguchi. 2012b. Diagnosis of subacute ruminal acidosis (SARA) by continuous reticular pH measurements in cows. *Vet. Res. Commun.* 36:201–205.

Schirmann, K., N. Chapinal, D. M. Weary, W. Heuwieser, and M. A. G. von Keyserlingk. 2012. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:3212–3217. doi: 10.3168/jds.2011-4741.

Schurmann, B. L., M. E. Walpole, P. Gorka, J. C. H. Ching, M. E. Loewen, and G. B. Penner. 2014. Short-term adaptation of the ruminal epithelium involves abrupt changes in sodium and shortchain fatty acid transport. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 307:R802–R816.

Schwaiger, T., K. A. Beauchemin, and G. B. Penner. 2013a. Duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: Short-chain fatty acid and lactate absorption, saliva production, and blood metabolites. *J. Anim. Sci.* 91:5743–5753.

Schwaiger, T., K. A. Beauchemin, and G. B. Penner. 2013b. Duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: Dry matter intake and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 91:5729–5742.

Seifi, H. A., S. J. Leblanc, K. E. Leslie, and T. F. Duffield. 2011. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *Vet. J.* 188:216–220.

Sheahan A. J., E. S. Kolver, J.R. Roche. 2011. Genetic strain and diet effects on grazing behavior, pasture intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94(7):3583-91. doi: 10.3168/jds.2010-4089.

Smaxtec. 2011. User Manual Smaxtec® pH Monitoring System.

Soriani, N., E. Trevisi, and L. Calamari. 2012. Relationships between rumination time, metabolic conditions, and health status in dairy cows during the transition period. *J. Anim. Sci.* 90:4544–4554.

Stangaferro, M. L., R. Wijma, L. S. Caixeta, M. A. Al-Abri, and J. O. Giordano. 2016b. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders. Part II. Mastitis. *J. Dairy Sci.* 99:7411–7421. doi. 10.3168/jds.2016-10908.

Stangaferro, M. L., R. Wijma, L. S. Caixeta, M. A. Al-Abri, and J. O. Giordano. 2016c. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders. Part III. Metritis. *J. Dairy Sci.* 99:7422–7433. doi. 10.3168/jds.2016-11352.

Stangaferro, M. L., R. Wijma, L. S. Caixeta, M. A. Al-Abri, and J. O. Giordano. 2016a. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders. Part I. Metabolic and digestive disorders. *J. Dairy Sci.* 99:7395–7410. doi. 10.3168/jds.2016-10907.

Steele, M. A., J. C. Croom, M. Kahler, O. AlZahal, S. E. Hook, K. Plaizier, and B. W. McBride. 2011. Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300:R1515–1523.

Steele, M. A., C. Schiestel, O. AlZahal, L. Dionissopoulos, A. H. Laarman, J. C. Matthews, and B. W. McBride. 2015. The periparturient period is associated with structural and transcriptomic adaptations of rumen papillae in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:2583–2595.

Stone, W. C. 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:(E. Suppl.):E13–E26.

Stone, A. E., B. W. Jones, C. A. Becker, and J. M. Bewley. 2017. Influence of breed, milk yield, and temperature-humidity index on dairy cow lying time, neck activity, reticulorumen temperature, and rumination behavior. *J. Dairy Sci.* 100:2395–2403. doi: 10.3168/jds.2016-11607.

Storm, A. C., and N. B. Kristensen. 2010. Effects of particle size and dry matter content of total mixed ration on intraruminal equilibration and net portal flux of volatile fatty acids in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:4223–4238.

Storm, A. C., N. B. Kristensen, and M. D. Hanigan. 2012. A model of ruminal volatile fatty acid absorption kinetics and rumen epithelial blood flow in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 95:2919–2934.

Südekum, K.-H., S. J. Krizsan, and K. Gerlach. 2016. Forage quality evaluation—Current trends and future prospects. Pages 151–158 in *The Multiple Roles of Grassland in the European Bioeconomy*. Proc. 26th Gen. Meet. Europ. Grassl. Fed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.

Suzuki, S., H. Fujita, and Y. Shinde. 1969. Change in the rate of eating during a meal and the effect of the interval between meals on the rate at which cows eat roughages. *Anim. Prod.* 11:29–41.

Tafaj, M., B. Junck, A. Maulbetsch, H. Steingass, H.-P. Piepho, and W. Drochner. 2004. Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral rumen of cows fed with different hay qualities and concentrates levels. *Arch. Anim. Nutr.* 58:325–342.

Tomaszewski, M. A. 1993. Record-keeping systems and control of data flow and information retrieval to manage large high producing herds. *J. Dairy Sci.* 76:3188–3194.

Tyrrell H. F. and Reid. J. T. 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. Department of Animal Husbandry, Cornell University, Ithaca, New York. *J. Dairy Sci.* 48:9, 1215–1223.

Van Soest, P.J. and R.H. Wine. 1967. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 50, 50-55.

Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Varga, G. A., H. Dann, and V. Ishler. 1998. The use of fiber concentrations for ration formulation. *J. Dairy Sci.* 81:3063–3074.

Vercouteren, M. M., J. H. Bittar, P. J. Pinedo, C. A. Risco, J. E. Santos, A. Vieira-Neto, and K. N. Galvao. 2015. Factors associated with early cyclicity in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:229–239.

Vibart, R. E., V. Fellner, J. C. Burns, G. B. Huntington, and J. T. Green. 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed rations and pasture. *J. Dairy Res.* 75:471–480.

Watt, L. J., C. E. F. Clark, G. L. Krebs, C. E. Petzel, S. Nielsen, and S. A. Utsumi. 2015. Differential rumination, intake, and enteric methane production of dairy cows in a pasture-based automatic milking system. *J. Dairy Sci.* 98:7248–7263. doi. 10.3168/jds.2015-9463.

Welch, J. G. 1982. Rumination, particle size and passage from the rumen. *J. Anim. Sci.* 54:885–894. doi. 10.2527/jas1982.544885x.

Wetzels, S. U., E. Mann, P. Pourazad, M. Kumar, B. Pinior, B. U. Metzler-Zebeli, M. Wagner, S. Schmitz-Esser, and Q. Zebeli. 2017. Epimural bacterial community structure in the rumen of Holstein cows with different responses to a long-term subacute ruminal acidosis diet challenge. *J. Dairy Sci.* 100:1829–1844.

White, R. R., M. B. Hall, J. L. Firkins, and P. J. Kononoff. 2017. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. I: Deriving equations that identify factors that influence effectiveness of fiber. *J. Dairy Sci.* 100:9551–9568. doi. 10.3168/jds.2017-12766.

Ying, Y., L.W. Rottman, C. Crawford, P.A. Bartell, and K.J. Harvatine. 2015. The effects of feeding rations that differ in neutral detergent fiber and starch concentration within a day on rumen digesta nutrient concentration, pH, and fermentation products in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:4685–4697.

Zanton, G. I., and A. J. Heinrichs. 2008. Rumen digestion and nutritional efficiency of dairy heifers limit-fed a high forage ration to four levels of dry matter intake. *J. Dairy Sci.* 91:3579–3588.

Zebeli, Q., M. Tafaj, H. Steingass, B. Metzler, and W. Drochner. 2006. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 89:651–668. doi. 10.3168/jds.S0022-0302(06)72129-4.

Zebeli, Q., M. Tafaj, I. Weber, J. Dijkstra, H. Steingass, and W. Drochner. 2007. Effects of varying dietary forage particle size in two concentrate levels on chewing activity, ruminal mat characteristics, and passage in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:1929–1942.

Zebeli, Q., J. Dijkstra, M. Tafaj, H. Steingass, B. Ametaj, and W. Drochner. 2008. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *J. Dairy Sci.* 91:2046–2066.

Zebeli, Q., D. Mansman, H. Steingass, and B. N. Ametaj. 2009. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livest. Sci.* 127:1–10.

Zebeli, Q., D. Mansmann, B. Ametaj, H. Steingass, and W. Drochner. 2010. A model to optimise the requirements of lactating dairy cows for physically effective neutral detergent fibre. *Arch. Anim. Nutr.* 64:265–278.

Zebeli, Q., and B. U. Metzler-Zebeli. 2012. Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. *Res. Vet. Sci.* 93:1099–1108.

Zebeli, Q., J. R. Aschenbach, M. Tafaj, J. Boghun, B. N. Ametaj, and W. Drochner. 2012. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:1041–1056.

Zhang, S., R. I. Albornoz, J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013. Short-term feed restriction impairs the absorptive function of the reticulo-rumen and total tract barrier function in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 91:1685–1695.