

**VALUTAZIONE DEL METABOLISMO AZOTATO – UREA, ACIDO URICO ED ALLANTOINA URINARI - IN BOVINE DA LATTE ALIMENTATE CON DIETA A BASE DI INSILATO DI MAIS O FIENO (NOTA PRELIMINARE)**

**EVALUATION OF NITROGEN METABOLISM – URINARY UREA, URIC ACID AND ALLANTOIN - ON LACTATING DAIRY COWS FED CORN SILAGE OR HAY BASED DIET (PRELIMINARY STUDY)**

Bernardini D., Segato S.<sup>(\*)</sup>, Gerardi G., Berzaghi P.<sup>(\*)</sup>, Elia C.<sup>(\*)</sup>, Ferrari V., Ossensi C.<sup>(\*)</sup>, Poser H., Dorigo M.<sup>(\*)</sup>, Andrighetto I.<sup>(\*)</sup>

*Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie – Università degli Studi di Padova*

*(\*) Dipartimento di Scienze Animali – Università degli Studi di Padova*

**PAROLE CHIAVE:** bovine da latte, foraggi affienati, insilato di mais, composti azotati urinari

**RIASSUNTO**

Scopo del lavoro è stato determinare l'effetto dell'insilato di mais rispetto al fieno, come principale componente della dieta, sul tenore azotato urinario. Secondo un piano sperimentale a cross over 2x2, 14 bovine di razza Frisona (212±99 gg. lattazione e 26.7±5.9 kg latte/d) sono state alimentate con due diete isoenergetiche, isoproteiche e isofibrose. Dopo tre settimane di adattamento, sono stati valutati urea, acido urico ed allantoina urinari. I dati sono stati sottoposti ad ANOVA (PROC MIXED), considerando dieta e ordine di parto quali effetti principali, vacca (ordine di parto) come effetto random e periodo come variabile ripetuta. I risultati hanno mostrato che il trattamento alimentare non influenza alcun parametro urinario considerato. In particolare, poiché urea, allantoina e acido urico urinari sono indicatori del metabolismo azotato ruminale, si è evidenziato che la differente inclusione alimentare di carboidrati strutturali (SC) e non strutturali (NSC) non influenza l'efficienza di utilizzazione dell'azoto per la produzione lattea. In conclusione, considerando bovine da latte mediamente produttive, lo studio non ha evidenziato alcuna influenza della totale sostituzione di insilato di mais con fieno sui parametri urinari considerati; l'indagine verrà approfondita, in un prossimo lavoro, mediante la valutazione di ulteriori parametri a livello di siero ematico e di latte.

**SUMMARY**

Aim of this study was to assess the effects of corn silage vs. hay as main dietary ingredients on urinary nitrogen composition. According to a 2x2 cross over design, 14 Holstein (DIM: 212±99; milk production: 26.7±5.9 kg/d) were fed two isoenergetic, isoproteic and isofibrous diets. After three weeks of adaptation, in each experimental period urinary urea, uric acid and allantoin were measured. Data were submitted to ANOVA (PROC MIXED) considering diet and calving sequence as main effects, cow (calving sequence) as random effect and period as repeated variable. Results showed that the dietary treatment did not affected any nitrogen parameter considered. Particularly, since urinary urea, allantoin and uric acid are indicators of ruminal nitrogen metabolism, our results have indicated that the different dietary inclusion of structural (SC) and not structural (NSC) carbohydrates did not affected the efficiency of nitrogen utilization in milk production. In conclusion, considering dairy cows averagely productive, the study did not evidenced any influence of the complete substitution of corn silage with grass hay on considered urinary parameters; this study will be analysed thoroughly by assessment of further serum and milk data.

**INTRODUZIONE**

Nella zona agraria 'Destra Brenta' (provincia di Vicenza), la zootecnia da latte può essere sintetizzata in due tipologie produttive, in base al criterio di razionamento alimentare delle bovine: foraggi affienati vs insilato di mais. In termini di sostenibilità, si può ipotizzare che il sistema prato-fieno comporti minori surplus di composti azotati nel comprensorio territoriale 'Destra Brenta'; viceversa l'impiego del silomais, aumentando il grado di intensivizzazione del processo produttivo, oltre a influenzare la redditività aziendale, potrebbe comportare un incremento del rilascio di nutrienti azotati nel sistema (Segato *et al.*, 1997). In riferimento all'alimentazione di bovine da latte, diversi studi hanno evidenziato che l'aumento dell'efficienza di utilizzazione della proteina alimentare può incrementare la produttività, riducendo la quota di azoto escreto con le deiezioni (Cozzi *et al.*, 2003). Anche il tipo e la qualità del foraggio utilizzato nel razionamento agisce sull'escrezione azotata, poiché influenza entità e cinetica delle fermentazioni ruminale (Andrighetto *et al.*, 1997; Jarvis *et al.*, 2000). Al fine di stimare l'efficienza di utilizzazione ruminale dei composti azotati, è stato proposto l'utilizzo dell'allantoina come rapido indicatore (Broderick, 2003); tale composto, misurato nel latte o nell'urina, risulta infatti strettamente correlato all'attività microbica ruminale (Timmermans *et al.*, 2000). Al fine di verificare l'ipotesi di un diverso rilascio di escrezioni azotate (bilancio dell'azoto a livello animale) nei due sistemi descritti, la

presente ricerca si è posta l'obiettivo di valutare l'efficienza produttiva e il rilascio di composti azotati urinari in bovine in lattazione, alimentate con due diete a diversa inclusione di alimenti fibrosi: fieno vs silomais.

## MATERIALI E METODI

A fine inverno 2005, nell'arco di un periodo di due mesi, secondo un disegno sperimentale *cross over* 2x2, 14 bovine di razza Frisona Italiana (212±99 giorni di lattazione e 26.7±5.9 kg latte/d) sono state alimentate con due diete isoenergetiche (UFL, Unità Foraggiere Latte; NSC, carboidrati non strutturali), isoproteiche (PG; proteina grezza) e isofibrose (NDF e ADF, frazioni fibrose o carboidrati strutturali). Come riportato in Tabella 1, una dieta è stata formulata a base di foraggi affienati (dieta FIENO), l'altra a base di silomais (dieta SILOMAIS); si è quindi proceduto a bilanciare le diete con concentrati proteici e amilacei comunemente impiegati nella zona agraria allo studio. La composizione centesimale delle diete è stata analizzata con tecnica NIRS (Berzaghi *et al.*, 1999; Berzaghi *et al.*, 2000), mentre le UFL sono state calcolate come suggerito da NRC (2001). Le diete, preparate secondo la tecnica *unifed*, sono state somministrate *ad libitum* in una unica razione al mattino, avendo cura di registrare i consumi giornalmente.

Tabella 1. Ingredienti e composizione centesimale delle diete a confronto.

INGREDIENTI (kg tal quali)	FIENO	SILOMAIS
Insilato di mais	-	24.0
Concentrato proteico	5.0	5.6
Concentrato amilaceo-proteico	7.7	3.9
Fieno di medica	1.0	1.0
Fieno di prato (3° taglio)	4.9	2.0
Fieno di prato (1° taglio)	5.0	2.8
Polpe di barbabietola	1.2	0.6
Acqua	15.0	-
<b>COMPOSIZIONE CENTESIMALE (% ss)</b>		
Sostanza secca	54.6	54.5
UFL/ kg ss	0.94	0.94
Proteina grezza	15.0	14.5
Estratto etereo	3.9	4.5
NDF	36.2	35.8
di cui, ADF	22.4	21.4
NSC	37.3	38.3
Ceneri gregge	7.6	6.9

UFL: Unità Foraggiere Latte; NDF: fibra neutro-detersa; ADF: fibra acido-detersa.

Dopo tre settimane di adattamento, si è proceduto alla determinazione dei composti azotati nelle urine. Campioni di urina sono stati raccolti mediante minzione spontanea nell'arco di 24 ore (un rilievo ogni 8 ore); previa miscelazione, gli stessi sono stati analizzati in laboratorio per determinare i seguenti composti azotati: urea, acido urico ed allantoina. I campioni di urina sono stati processati, a distanza di 1 ora dalla consegna in laboratorio. Dapprima sono stati centrifugati per 5' a 1500 r.p.m. allo scopo di far sedimentare il particolato in sospensione; il surnatante così ottenuto è stato utilizzato per l'analisi quantitativa di urea ed acido urico mediante strumento Hitachi 912 Automatic Analyzer (Roche Diagnostics System, Mannheim Germany). Previa conservazione (-20°C) di un'aliquota di surnatante urinario, la determinazione quantitativa dell'allantoina è stata eseguita mediante tecnica di elettroforesi capillare (mod. P/ACE MDQ System; Beckman-Coulter Inc. Fullerton, CA - USA) e detector UV (Adam *et al.*, 1999). Allo scopo di ottimizzare la determinazione dell'allantoina urinaria nella specie bovina, la metodica analitica è stata adattata mediante impiego di un capillare di silice fusa (diametro interno di 20 µm in luogo di 50 µm) e diluizione del campione di urina in rapporto volumetrico 1:10 con acqua distillata.

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA, PROC MIXED), considerando dieta e ordine di parto quali effetti principali, vacca (ordine di parto) come effetto random e periodo come variabile ripetuta. Per l'elaborazione dei dati si è impiegato il pacchetto statistico SAS (1999).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

L'impiego delle due diete a diversa inclusione di alimenti fibrosi non ha influenzato le prestazioni produttive delle bovine (dati non tabulati per brevità). I risultati relativi ai composti azotati urinari sono riportati in tabella 2. La disamina di tali risultati evidenzia l'assenza di significativi effetti del fattore dieta sui composti indagati.

Tabella 2. Effetto della dieta sui composti azotati urinari.

PARAMETRI URINARI	DIETA		SIGNIFICATIVITÀ			SEM
	FIENO	SILOMAIS	DIETA	OP	D*OP	
Urea	1436	1420	ns	ns	ns	87
Acido urico	33.8	36.8	ns	ns	ns	2.5
Allantoina	2.82	3.03	ns	ns	ns	0.19

I dati sono espressi in mg/dL, ad eccezione dell'allantoina riportata in mg/mL.

OP: ordine parto; D\*OP: interazione di I ordine tra DIETA e ORDINE PARTO.

I valori riscontrati nello studio per i vari parametri azotati urinari sono risultati in linea con la media per vacche lattifere mediamente produttive (Gonzales-Ronquillo *et al.*, 2003). I risultati riscontrati hanno evidenziato che nella tesi alimentare FIENO un maggior ricorso ai carboidrati non strutturali (NSC) più facilmente degradabili, quali quelli del concentrato amilaceo, non ha comportato una diversa sincronizzazione tra degradabilità delle sostanze azotate e fermentazioni dei carboidrati. In altri termini, nel caso della dieta FIENO, degradazione delle proteine alimentari e fermentazioni dei carboidrati hanno consentito lo stesso livello di sintesi proteica microbica rispetto alla tesi SILOMAIS. Driedger e Loerch (1999) hanno riscontrato simili risultati in un confronto tra una dieta a base di fieno e una formulata con maggiori inclusioni di granella intera di mais; le diete in quest'ultima prova non erano isoproteiche, ma l'ingestione di azoto fu simile.

Nella presente ricerca i cataboliti azotati presenti a livello urinario, dunque, sono risultati simili soprattutto in riferimento all'allantoina, composto considerato indicatore dell'efficienza del metabolismo azotato a livello ruminale.

Considerando il titolo proteico della razione, relativamente basso, e l'avanzato stadio di lattazione delle bovine, i risultati ottenuti dal presente studio dovrebbero essere integrati, sperimentando l'effetto di razioni simili alle attuali, su bovine che si trovino in una fase di maggiore produttività, compatibile con lo stadio di apertura di lattazione. Anche un diverso impiego di fonti proteiche supplementari, rispetto a quelle impiegate nella sperimentazione, potrebbe sortire risultati diversi (Børsting *et al.*, 2003).

## CONCLUSIONI

La prova ha evidenziato che, in relazione a vacche mediamente produttive, la differente origine alimentare (fieno vs silomais) dei carboidrati strutturali e non strutturali non influenza significativamente l'efficienza di utilizzazione delle sostanze azotate. Dai dati della sperimentazione, inoltre, si conferma che urea, acido urico ed allantoina urinari sono utili indicatori del metabolismo azotato ruminale. Tali parametri, pertanto, risultano di rapido impiego qualora sia necessario stimare l'efficienza di utilizzazione dell'azoto alimentare per la produzione di latte, anche al fine di limitare l'emissione dello stesso in contesti geografici potenzialmente vulnerabili dal punto di vista ambientale e idro-geologico.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia la FONDAZIONE CARIVERONA per il supporto finanziario; la Fondazione Studi Universitari di Vicenza e l'Amministrazione della Provincia di Vicenza per il supporto logistico.

## BIBLIOGRAFIA

- Adam T., Friedecký D., Fairbanks L.D., Ševčík J., Barták P. (1999). Capillary Electrophoresis for Detection of Inherited Disorders of Purine and Pyrimidine Metabolism. *Clinical Chemistry* 45, No. 12, 2086-2093.
- Andrighetto I., Berzaghi P., Cozzi G., Gottardo F., Zancan M. (1997). Conservation of spring cut Italian ryegrass as round bale silage: effect of stage of maturity on ensiling characteristics and forage nutritive value. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 179: 251-256.
- Berzaghi P., Cozzi G., Leonardi C., Segato S. (1999). The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the study of in situ degradation kinetics of maize stovers, 324-326. In: *Recent Progress in Animal Production Science*. 1. Proceedings of the A.S.P.A. XIII Congress, Piacenza, 21-24 giugno, FrancoAngeli, Milano.
- Berzaghi P., Shenk J.S., Westerhaus M.O. (2000). Local NIRS prediction with multi-product databases. *Journal of Near InfraRed Spectroscopy*, vol. 8(1): 1-9.
- Børsting C.F., Kristensen T., Misciattelli L., Hvelplund T., Weisbjerg M.R. (2003). Reducing nitrogen surplus from dairy farms. Effects of feeding and management. *Liv. Prod. Sci.*, 83: 165-178.
- Broderick G.A. (2003). Effect of varying Dietary Protein and Energy levels on the Production of Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science*, 86:1370-1381.
- Cozzi G., Berzaghi P., Segato S., Andrighetto I. (2003). Productive response of dairy cows to a supplementation with methionine hydroxy analog. *Ital. J. Anim. Sci.*, Vol. II (Suppl. 1), 222-224.
- Driedger L.J. e Loerch S.C. (1999). Limit-feeding Corn as an alternative to Hay reduces Manure and Nutrient Output by Holstein Cows. *Journal Animal Science*, 77:967-972.

Gonzales-Ronquillo M., Balcells J., Guada J.A., Vincente F. (2003). Purine Derivate Excretion in Dairy Cows: Endogenous Excretion and the Effect of Exogenous Nucleic Acid Supply. *Journal Dairy Science*, 86:1282-1291.

Jarvis S.C. e Aarts H.F.M. (2000). Nutrient management from a farming system perspective. *Grassland Science Europe*, 5: 363-373.

NRC (2001). NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient Requirement of Dairy Cattle* (7<sup>th</sup> Rev. Ed.). National Academy Press, Washington, DC.

SAS (1999). User's guide: statistic, 8<sup>th</sup> Edn., SAS Inst., Cary, NC, USA.

Segato S., Andrighetto I., Benvenuti L., Rosato P. (1997). Effetto del tipo di alimentazione sul bilancio dei nutrienti in sistemi intensivi da latte del Delta Brenta. *Atti Convegno Nazionale "Parliamo di... alimentazione animale e ambiente"*, 81-88.

Timmermans S.J. Jr., Johnson L.M., Harrison J.H., Davidson D. (2000). Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using milk uric acid or allantoin. *Journal Dairy Science*, 83:1286-1299.