

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna
Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie

Corso di Laurea Magistrale in Biotecnologie Animali

Materia di tesi:
Applicazioni di Genomica Avanzata nelle Produzioni Animali

**VALIDAZIONE DEGLI INDICI GENOMICI PER
L'EFFICIENZA ALIMENTARE UTILIZZANDO
DATI DI CAMPO: ESPERIENZA DELLA STALLA
SPERIMENTALE DELL'UNIVERSITÀ
DI BOLOGNA**

Tesi di laurea di
Roberta De Gregorio

Relatore:
Prof. Giulio Visentin

Correlatore:
Dr. Giovanni Buonaiuto

Anno accademico: 2022/2023

INDICE

Abstract	3
1. Selezione genetica negli animali di interesse zootecnico	4
1.1 Evoluzione della selezione genetica nella bovina da latte	4
1.2 I programmi di selezione	6
1.2.1 Caratteristiche dei caratteri oggetto di miglioramento	7
2. La razza Frisona	12
2.1 Origine e diffusione della razza	12
2.2 Obiettivi di selezione della razza	13
2.3 Valutazione morfo-funzionale	14
3. L'efficienza alimentare nelle bovine da latte	16
3.1 Comportamento alimentare delle bovine	16
4. Materiali e Metodi	22
4.1 Scopo della ricerca	22
4.2 Stalla sperimentale	22
4.2.1 Stazione sperimentale	23
4.2.2 Sistema di mungitura	26
4.3 Calcolo degli indici e analisi statistica	30
5. Risultati	33
6. Discussione	37
7. Conclusioni	43
Bibliografia	44
Ringraziamenti	57

Abstract

Una strategia per massimizzare il miglioramento genetico consiste nell'individuazione di femmine geneticamente migliori attraverso il test genomico che permette la stima di indici genomici anche quando un animale è in giovane età. Attualmente, l'efficienza alimentare costituisce un tema predominante per la comunità scientifica e non solo. L'obiettivo della presente tesi è valutare l'associazione tra indici genomici per il carattere efficienza alimentare predetta (PFE) con dati reali sull'ingestione di sostanza secca (DMI). Questo studio è stato condotto analizzando i dati raccolti nella stalla sperimentale del DIMEVET dell'Università di Bologna. Le vacche sono regolarmente incluse in prove sperimentali nutrizionali, in cui sono raccolte quotidianamente informazioni sul DMI, mentre gli indici genomici PFE sono calcolati nell'ambito delle valutazioni genetiche e genomiche nazionali. I dati sono stati analizzati mediante un modello lineare misto, separatamente per le primipare e le pluripare, aggiustando la variabile dipendente DMI per gli effetti fissi della produzione giornaliera di latte (covariata lineare), gli indici genomici PFE (2 classi: < 100 o ≥ 100), e i giorni dopo il parto (< 120 o ≥ 120); gli effetti casuali erano rappresentati dalla vacca entro prova sperimentale e dal gruppo di contemporanee. La media di PFE è stata di $99,50 (\pm 1,48)$, mentre quella del DMI di $23,48 (\pm 3,44)$ e $26,91 (\pm 3,14)$ kg/giorno per le primipare e le pluripare, rispettivamente. Le differenze tra le medie stimate dei due livelli di PFE sono state di $-0,23 (\pm 1,10; P > 0,05)$ e $-0,26 (\pm 0,75; P > 0,05)$ kg DMI/giorno nelle vacche primipare e pluripare, rispettivamente. Pur non risultando statisticamente significative, le stime hanno indicato che, indipendentemente dagli effetti sistematici, le vacche con un maggiore merito genetico per PFE presentano un'ingestione alimentare inferiore rispetto a quelle con un merito genetico inferiore.

1. Selezione genetica negli animali di interesse zootecnico

La selezione genetica degli animali attraverso una scelta dei riproduttori basata sul calcolo di indici genetici è una pratica ampiamente utilizzata nell'allevamento moderno, ed è impiegata in tutte le specie di interesse zootecnico, dall'ape (Facchini *et al.*, 2019) al bovino (Rovelli *et al.*, 2020). Questo approccio si basa sulla comprensione delle basi genetiche delle caratteristiche desiderate, quasi esclusivamente basate sul modello infinitesimale che regola l'espressione fenotipica di caratteri di natura quantitativa, e sulla valutazione accurata dei valori riproduttivi degli individui (Meuwissen *et al.*, 2001). Tale opera di selezione ha espresso la sua massima potenzialità nell'allevamento della bovina da latte. L'intensa attività di selezione dei riproduttori, infatti, ha contribuito a trasformare e migliorare in maniera significativa l'industria lattiero-casearia in tutto il mondo (Miglior *et al.*, 2017).

1.1 Evoluzione della selezione genetica nella bovina da latte

Le caratteristiche considerate per la selezione nelle popolazioni di bovini da latte si sono “evolute” nel tempo, sia in risposta ai cambiamenti delle esigenze degli allevatori, dei trasformatori e dei consumatori, ma anche per adattarsi ai progressi tecnologici e dei programmi di registrazione delle performance animali (Miglior *et al.*, 2017).

L'importanza economica dei caratteri oggetto della selezione è stata storicamente il motore della selezione genetica. I primi schemi di selezione dei riproduttori sono cominciati nel corso del XX secolo, orientando la scelta principalmente su caratteri produttivi e sulla conformazione della mammella (Lopez-Villalobos *et al.*, 2020). Sebbene inizialmente fossero sorti dei dubbi riguardanti l'utilizzo esclusivo della produzione come criterio di selezione, l'industria ha cercato comunque di ottenere il maggior progresso genetico nell'area economicamente più redditizia (Miglior *et al.*, 2017). I piani di selezione dei riproduttori hanno portato una serie di benefici tangibili sulla popolazione bovina da latte: basti pensare che, ad esempio, nel 1920 le vacche di razza Frisona producevano in media 2000 kg di latte all'anno (305 giorni in lattazione). A confronto, 100 anni dopo, le vacche della stessa razza producono in media oltre 10.000 kg di latte all'anno, con lo stesso, se non un maggiore, contenuto di solidi in particolare grasso e proteina (Medeiros *et al.*, 2022). Inoltre, il miglioramento delle tecniche di inseminazione artificiale e

conservazione del seme ha reso possibile la diffusione su larga scala di tori di alto valore genetico in tutto il mondo (López-Gatius, 2021). Tuttavia, la pressione selettiva concentrata esclusivamente sull'aumento della produzione di latte (Zachut *et al.*, 2020) è correlata a una diminuzione di altri caratteri importanti nelle bovine da latte, come fertilità, salute e longevità (Miglior *et al.*, 2005). Per contrastare tale diminuzione, dall'inizio del XXI secolo molti paesi si sono orientati verso obiettivi di selezione più equilibrati, includendo maggior peso su caratteri precedentemente sottovalutati e introducendo nuovi obiettivi di selezione man mano che nuovi fenotipi diventano disponibili e misurabili a costi accessibili (Miglior *et al.*, 2005). L'inclusione di questi nuovi caratteri negli indici di selezione ha potenziato i programmi di selezione in tutto il mondo, offrendo opportunità per sviluppare obiettivi di selezione più in linea con le aspettative dei produttori e dei consumatori. Ad esempio, l'introduzione della spettroscopia del medio infrarosso (MIR) nei controlli funzionali del latte ha permesso di predire caratteri di interesse per l'industria lattiero-caseario, come le proprietà coagulative del latte (El Jabri *et al.*, 2020), in quanto le informazioni spettrali, ricavate nell'ambito del controllo funzionale, possono essere utilizzate per la predizione di fenotipi di difficile misurazione su larga scala e ad un costo contenuto (Tiplady *et al.*, 2020).

Inoltre, molti nuovi caratteri, predicibili grazie alla spettroscopia MIR, sono rilevanti per la soddisfazione delle aspettative dei consumatori e per le preoccupazioni sulla qualità nutrizionale del latte e l'impatto dei sistemi di produzione lattiero-casearia sulla salute degli animali. Alcuni esempi di questi sono legati alla capacità di predire il contenuto di metaboliti ematici, acidi grassi non esterificati e β -idrossibutirrato (Benedet *et al.*, 2019) e sull'ambiente (ad esempio, il contenuto di urea nel latte; (Grelet *et al.*, 2020)). Alcuni di questi fenotipi potrebbero essere utilizzati dagli enti di selezione per classificare le vacche e i tori al fine di migliorare le performance produttive e riproduttive e simultaneamente riducendo l'impatto ambientale della produzione zootecnica da latte. Inoltre, le recenti tecnologie hanno reso possibile la stima del merito genetico dei tori attraverso la predizione genomica (Whitt *et al.*, 2019), mediante l'analisi del genoma degli animali per predire il valore riproduttivo genomico (GEBV) potenzialmente alla nascita di un giovane candidato riproduttore.

1.2 I programmi di selezione

L'obiettivo finale della selezione genetica è individuare e far riprodurre tutti quegli individui che possiedono caratteristiche che posso apportare un miglioramento in una popolazione (Nebel and Jobst, 1998; Georges, 2001). Una scelta corretta dei riproduttori, da un punto di vista pratico, determina, nella prossima generazione di individui, una variazione nella direzione desiderata della media di popolazione di un carattere di particolare interesse zootecnico (Farstad, 2018). Il miglioramento genetico permette quindi agli allevatori di ridurre i costi, aumentare le produzioni, ma anche diminuire gli intervalli generazionali grazie alla selezione genomica. Inoltre, tramite piani di accoppiamenti accurati è possibile adottare delle strategie che permettano di mantenere a livelli contenuti il livello di consanguineità in una popolazione (Hedrick, 2015).

Un programma di selezione, ad oggi, è incentrato sulle capacità produttive e riproduttive, sul benessere animale, con uno sguardo anche alla sostenibilità ambientale (Cole *et al.*, 2021). Connessi a queste tipologie di caratteri vi è anche la facilità al parto in quanto una bovina con difficoltà di parto risulta meno produttiva (Crowe *et al.*, 2018). Altresì di rilievo sono alcuni caratteri funzionali quali la conformazione della mammella, l'indice arti e piedi e il *body condition score* (BCS; Williams *et al.*, 2022).

Nello specifico, per quanto riguarda i caratteri legati alla produzione, i caratteri normalmente considerati nei programmi di selezione sono:

- Quantità di latte prodotto (kg di latte, kg di grasso e di proteine);
- Qualità del latte (percentuale di grasso e percentuale di proteine);
- Persistenza alla lattazione;

A questi poi si aggiungono parametri legati alla funzionalità come la longevità, la facilità di parto e la fertilità. Quest'ultima è nota per essere un parametro molto complesso, per natura e per tipologia di caratteri che possono concorrere a definirla. È possibile, tuttavia, classificare i parametri riproduttivi nelle seguenti modalità:

- Caratteri di intervallo, che comprendono l'intervallo parto-prima inseminazione (DTFS), l'intervallo parto-concepimento (DO), l'intervallo prima-ultima inseminazione (IFL) e l'interparto (CI);
- Caratteri binari, che comprendono il tasso di concepimento e il tasso di non ritorno in calore a 56 giorni dalla prima inseminazione;

- Caratteri di conteggio, come il numero di inseminazioni.

Per i caratteri relativi alla salute animale, il parametro più diffuso nei piani di selezione delle bovine da latte è rappresentato dal conteggio di cellule somatiche.

1.2.1 Caratteristiche dei caratteri oggetto di miglioramento

Per poter essere utilizzati in un programma di miglioramento genetico, i caratteri devono essere:

- Ereditabili, ovvero la loro espressione deve essere influenzata non solo da fattori ambientali, ma anche dall'azione di uno o molti geni.
- Misurabili su una scala metrica, il che permette di ottenere dati numerici e oggettivi che possono essere analizzati e confrontati in modo accurato.

Importanti, principalmente, ma non esclusivamente, da un punto di vista economico. Normalmente, i caratteri oggetti di selezione sono di natura quantitativa, ovvero, devono essere caratterizzati da una variabilità continua all'interno del range biologico di ciascun carattere (Pagnacco, 1997).

L'importanza di questi requisiti è fondamentale per garantire che i programmi di miglioramento genetico siano efficaci e producano risultati desiderabili. Utilizzando caratteri quantitativi e misurabili su scala metrica, gli allevatori possono raccogliere e fornire dati accurati, identificare gli animali con le migliori caratteristiche genetiche e selezionarli per l'accoppiamento, aumentando così la probabilità di ottenere prole con le caratteristiche desiderate. Questo processo consente di migliorare la produttività, la salute e altre caratteristiche desiderabili del bestiame nel corso del tempo.

Tuttavia, essendo questi caratteri quantitativi e per definizione influenzati non solo dalla componente genetica ma anche ambientale, in uno schema di selezione genetica risulta importante distinguere quanto la variabilità di un carattere, cioè la differenza che si osserva fra gli animali per varie caratteristiche, sia associata a quella genetica o ambientale.

La variabilità di un carattere si può distinguere in:

- Fenotipica (P), che rappresenta la variabilità osservabile;
- Componente genotipica (G), la quota di variabilità data da effetti genetici additivi semplici, epistasi e dominanza;
- Componente ambientale (E), ossia quella quota di variabilità di natura NON genetica (Pagnacco, 2016).

La componente genotipica, rappresenta l'effetto globale del genotipo di un individuo e può essere diviso in:

- *Effetti genetici additivi*, sono gli effetti degli alleli implicati nel controllo di un carattere e trasmessi da una generazione alla successiva;
- *Effetti di dominanza*, ovvero effetti di interazione che avvengono tra alleli presenti allo stesso locus;
- *Effetti di epistasi*, quale effetto di interazione che avvengono tra alleli presenti in loci diversi (Pagnacco, 2016).

I caratteri di natura quantitativa sono regolati, da un punto di vista genetico, sulla base del modello infinitesimale postulato da Fisher (1918). Sotto questo modello, i caratteri di natura quantitativa sono controllati da una moltitudine di geni ciascuno con un effetto infinitesimamente piccolo sul carattere oggetto di studio; gli effetti di dominanza ed epistasi, anche se presenti hanno un'importanza ridotta e, di conseguenza, gli unici effetti di natura genetica coinvolti nei caratteri quantitativi sono gli effetti additivi. La somma di tutti questi effetti additivi prende il nome di merito genetico additivo, o valore riproduttivo, o *breeding value*, che definisce il valore dell'animale se usato come riproduttore e permette di capire se è in grado di migliorare o meno una determinata caratteristica in una popolazione. Il *breeding value* (BV) viene espresso come deviazione da una media di popolazione che prende il nome di base genetica ed eventualmente standardizzato. Il BV reale non è noto, tuttavia esistono delle metodologie biostatistiche che ne permettono la sua stima, e quindi più correttamente si parla di *estimated breeding value* (EBV). Nella pratica comune, gli EBV sono anche conosciuti come indici genetici, che poi possono venire combinati tra loro in un unico indice di selezione. Quest'ultimo rappresenta il valore utilizzato dalle diverse associazioni di razza per consentire agli allevatori di scegliere gli animali da utilizzare come riproduttori. Un indice di selezione può essere costituito da un indice solo (ad esempio il latte in kg) o, molto più comunemente, da una combinazione di più indici (esempio PFT della razza Frisona). L'indice di selezione rappresenta quindi una stima del merito genetico di ogni animale e, se viene calcolato secondo criteri e metodologie avanzate (ad esempio con il BLUP *Animal Model*), costituisce uno strumento indispensabile e di grande importanza per individuare i migliori animali di una razza. Pertanto, gli indici di selezione risultano essere molto vantaggiosi, in

quanto permettono di massimizzare la risposta della selezione di più caratteri simultaneamente.

La componente ambientale, che concorre a contribuire, assieme alla componente genetica, alla variabilità fenotipica o osservabile di un carattere, è interpretata come quella fonte di variazione di natura non genetica. Questa componente include tutta una serie di fattori che introducono altra variabilità nei fenotipi (ad esempio condizioni di salute degli animali, tipo di allevamento, età, stadio di lattazione, sesso, etc.). Questa componente può essere scomposta a sua volta in diversi effetti:

- Effetti ambientali sistematici o fissi*, effetti di natura nota e quantificabili che agiscono su tutti gli animali. Si tratta di effetti dei quali si è certi della loro influenza sul fenotipo e che possono essere determinati dalle informazioni raccolte nell'ambito dei controlli funzionali. Tra questi ricadono quelli legati allo stadio di lattazione dell'animale, l'ordine di parto (es., le bovine da primo parto producono meno latte rispetto a quelle da secondo parto etc.), la stagione di parto e il gruppo di contemporanee (identifica animali con uguale opportunità di performare);

- Effetti ambientali permanenti*, che agiscono su tutta la durata della carriera produttiva di un animale, i quali sono dovuti a fattori gestionali o alimentari. Rappresentano quindi tutti quegli effetti di natura non genetica che in qualche modo non sono ricavabili dalle informazioni raccolte nell'ambito del controllo funzionale. Un esempio di effetto ambientale permanente è dato dalle lesioni che possono procurarsi animali in giovane età, che incidono inevitabilmente sulla performance produttive in tutta la loro carriera;

- Effetti ambientali temporanei* sono effetti, sempre di natura non genetica, che, a differenza di quelli citati precedentemente, si manifestano solo in determinati momenti della carriera produttiva di un animale.;

- Effetto materno* è l'effetto dell'ambiente che la madre crea per l'accrescimento della prole. È un effetto che inizia prima del parto e dura fino a quando la madre ha una influenza sullo sviluppo della prole (Pagnacco, 2016).

Considerando che, da un punto di vista genetico, i caratteri di natura quantitativa seguono il modello infinitesimale, gli effetti di dominanza ed epistasi sono assunti essere pari a zero. Di conseguenza, la componente genotipica G è data solamente da effetti genetico-

additivi semplici. Questo aspetto porta a definire la variabilità o, meglio, varianza fenotipica (σ_P^2) come:

$$\sigma_P^2 = \sigma_A^2 + \sigma_E^2, \text{ dove}$$

σ_A^2 = varianza genetica additiva;

σ_E^2 = varianza ambientale.

Da qui è possibile risalire all'ereditabilità (h^2), ricavabile nel modo seguente:

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_E^2}$$

Essa va sempre stimata per qualsiasi carattere quantitativo oggetto di selezione e rappresenta la proporzione di variabilità fenotipica dovuta alla variabilità genetica-additiva (e quindi alla variabilità tra EBV). Se l'ereditabilità è pari a 0 allora la variabilità fenotipica non è dovuta a differenze genetiche; se pari a 0.5 la variabilità fenotipica è dovuta per metà a differenze genetiche per l'altra metà a cause ambientali; se pari a 1 la variabilità fenotipica è dovuta interamente a differenze genetiche. Per i caratteri ad alta ereditabilità (generalmente superiore allo 0,30-0,40 come i caratteri produttivi e alcuni caratteri morfologici) è più facile raggiungere elevate accuratezze di stima del BV con minori informazioni (es., numero di figlie con informazioni fenotipiche). Al contrario, per caratteri a bassa ereditabilità (es., fertilità) è possibile raggiungere elevate accuratezze di stima del BV solo con un numero elevato di informazioni. Questo ha effetto sul progresso genetico, poiché l'accuratezza di stima del BV è uno dei fattori che vanno ad influenzarlo. Di conseguenza, per caratteri a bassa ereditabilità, a parità di informazioni disponibili, si avrà un progresso genetico meno marcato.

Inoltre, i caratteri selezionati possono essere indipendenti tra loro oppure presentare "legami" genetici più o meno stretti: tali legami prendono il nome di correlazioni. Essi fanno sì che attraverso la selezione per un carattere si possa indirettamente migliorarne un altro o, al contrario, che si possa ottenere un peggioramento in un altro carattere. Per questo motivo le correlazioni genetiche tra i caratteri sono un aspetto molto importante nei programmi di selezione. È possibile ricorrere alla statistica utilizzando il coefficiente di correlazione, che misura l'intensità di associazione tra due variabili e quindi tra due caratteri. Esso può variare da -1, quindi correlazione negativa tra le due variabili, a +1, correlazione positiva. Risulta perciò necessario determinare l'ereditabilità di caratteri misurabili e le

correlazioni tra più caratteri per ottenere una stima accurata degli indici di selezione.
(Pagnacco, 2016).

2. La razza Frisona

La Frisona, o Holstein-Friesian, è una razza bovina specializzata per la produzione di latte. Grazie alle sue eccellenti caratteristiche produttive, è considerata una "razza cosmopolita", poiché si è diffusa in tutto il mondo. In Italia, questa razza è ampiamente diffusa su tutto il territorio nazionale, ma con una maggiore prevalenza nelle regioni del nord. Viene utilizzata per la produzione sia di latte destinato al consumo diretto che per la produzione di formaggi (ANAFIBJ).

2.1 Origine e diffusione della razza

La razza Frisona trae le sue origini nel nord dell'Olanda, precisamente in due regioni, una olandese, la Frisia e una tedesca l'Holstein, da cui prende il nome. Nel corso del tempo, gli allevatori hanno notato che gli animali di questa razza presentavano spiccate attitudini alla produzione di latte. Di conseguenza, per molti anni, gli allevatori tedeschi hanno lavorato per ottenere incroci mirati, al fine di sviluppare una razza costituita da animali capaci di sfruttare al massimo le vaste distese erbose tipiche dell'area geografica di origine. Il vero sviluppo della razza tuttavia comincia nel 1621, quando un numero crescente di allevatori e commercianti del continente americano iniziarono ad acquistare bestiame importato dall'Olanda, tale fenomeno non si limitò alla sola America ma coinvolse anche altre nazioni (ANAFIBJ).

Nella seconda metà dell'800 questa razza divenne la base genetica da cui ebbe origine la selezione del ceppo americano Holstein-Friesian, con capi selezionati in particolare per la produzione di latte.

La razza Frisona ha acquisito le attuali caratteristiche produttive grazie all'intensa azione selettiva iniziata nel 1874 con l'istituzione del Libro Genealogico, nonché alle cure cui gli allevatori olandesi hanno sottoposto la razza conservandone la purezza secondo uno standard di razza rigoroso. In seguito la razza si diffuse nei vari Paesi dell'Europa, quali Germania, Danimarca, Svezia, Inghilterra, Francia ed Italia, e del nord America (U.S.A. e Canada), dove l'azione autonoma di selezione ha permesso la creazione di vari "ceppi" della razza che presentano peculiari caratteristiche morfologiche.

In America, inizialmente, la selezione si focalizzò esclusivamente sulla produzione di latte, portando alla denominazione della razza come Holstein-Friesian negli Stati Uniti e

Canadian Holstein Friesian in Canada. Nel contempo, a livello nazionale, si osservò un notevole aumento del numero di capi nelle regioni settentrionali d'Italia, come la Lombardia e l'Emilia-Romagna. Queste regioni avevano un settore zootecnico più sviluppato grazie alla fertilità del terreno e alla presenza di una fitta rete commerciale. Tuttavia, la spinta al miglioramento della Frisona al fine di farla diventare razza esclusivamente da latte si ebbe solo nel 1929 quando, nell'allevamento della Bonifica di Torre in Pietra (RM), venne introdotto per la prima volta il toro *Carnation Producer* (capostipite della razza Frisona Italiana) proveniente dalla *Carnation Milk Farm* di Seattle (USA). Dal 1950 la Frisona sostituì, grazie alla sua netta superiorità produttiva, le altre razze locali ed in particolare la Bruna Alpina. Nel corso del dopoguerra si registrò una fortissima domanda di bovine Pezzate Nere e di bovine americane del tipo *Carnation*, che portò ad un conseguente incremento dell'importazione di capi olandesi e americani (ANAFIBJ).

L'espansione della popolazione di bovini di questa razza e la volontà di selezionare animali sempre più produttivi portò all'istituzione, nel 1945, dell'Associazione Allevatori di Bovini di razza Pezzata Nera Italiana" con i compiti di effettuare i controlli funzionali e di tenere il Libro Genealogico Nazionale. In seguito, nel 1957 l'associazione cambia nome, divenendo l'Associazione Nazionale Allevatori di razza Frisona Italiana (A.N.A.F.I.). L'azione selettiva operata sui ceppi europei della Frisona ha modificato la conformazione degli animali, che non si presentano più come animali a duplice attitudine, ma hanno assunto le caratteristiche morfo-funzionali tipiche di una razza bovina specializzata per la produzione di latte. Tale opera di selezione è avvenuta coinvolgendo capi sia di ceppo Holstein-Friesian che capi di ceppo Canadian Holstein-Friesian.

2.2 Obiettivi di selezione della razza

Gli obiettivi selettivi nei bovini di razza Frisona Italiana vertono nel produrre soggetti precoci per sviluppo e produttività, con una buona propensione alla produzione quantitativa e qualitativa di latte. Dai dati dell'A.N.A.F.I. si evidenzia la cospicua distribuzione nonché il *trend* fenotipico della razza ed emerge infatti che a livello nazionale nel 2018 gli allevamenti erano 9.896, con un numero di capi pari a 1.081.855 ed una media di vacche per allevamento di 109. (ANAFIBJ, 2018)

Secondo le ultime statistiche ufficiali riportate dall'Associazione Italiana Allevatori (AIA), più di 500.000 sono localizzati in Lombardia (distribuiti in oltre 3.000

allevamenti), circa 200.000 in Emilia-Romagna (in più di 1.700 aziende), oltre 100.000 in Piemonte (in quasi 1.000 aziende) e più di 70.000 in Veneto (poco più di 1.000 allevamenti); nel Centro Italia, si segnala il Lazio con circa 20.000 capi (in 3.000 aziende), mentre al sud spicca la Puglia (circa 25.000 capi in 600 aziende). Tra le Isole invece troviamo la Sardegna con poco più di 20.000 bovine (oltre 160 allevamenti) e la Sicilia, con circa 16.000 vacche (in circa 400 allevamenti). Tra le province più rappresentative, in ordine di Kg/proteine (allevamenti con almeno 20 vacche presenti), si segnalano Cremona, Mantova, Reggio Emilia, Padova, Brescia, Milano, Bari, Cuneo, Alessandria, Torino, Verona. Per quanto concerne la produttività della razza, ne emerge una produzione di latte in Kg pari a 10.136, per quanto riguarda la qualità del latte prodotto la razza produce in media un latte con una percentuale di grasso e di proteine rispettivamente pari a 3,76% e 3,35%. (ANAFIBJ, 2018)

2.3 Valutazione morfo-funzionale

La valutazione morfologica viene eseguita su tutte le primipare e per i maschi di oltre diciotto mesi di età a cui vengono attribuite qualifiche e punti. La selezione dei soggetti da avviare alla riproduzione si basa su alcune caratteristiche morfologiche che contraddistinguono la razza (ANAFIBJ).

Gli individui appartenenti alla razza Frisona, infatti, presentano un mantello con pezzatura nera o rossa (la pezzatura rossa deriva da una variante allelica recessiva), la pezzatura può variare dal totalmente bianco al totalmente nero al leopardato (caratteristica peculiare del ceppo canadese della razza). L'altezza al garrese delle vacche si attesta sui 130-150 cm, il peso invece varia dai 550 agli 800 kg. I maschi invece presentano un'altezza compresa tra i 138 e i 155 cm ed un peso variabile dai 900 ai 1100 kg.

La testa è espressiva, proporzionata distinta e vigorosa, con un profilo fronto-nasale rettilineo, occhi vivaci, orecchie molto mobili, narici larghe e musello ampio e forti mascelle. L'anteriore dell'animale presenta le caratteristiche tipiche degli animali ad attitudine lattifera, con collo allungato, sottile e ricco di pliche cutanee; garrese ben serrato, pronunciato e affilato; spalle fuse con il collo. Il petto è forte e ampio. Gli arti anteriori in appiombato e ben distanziati. I piedi forti e con suola alta. La linea dorsale rettilinea con lombi larghi e forti. La groppa lunga e livellata, preferibilmente pendente verso gli ischi; coda piuttosto sottile. Gli arti posteriori in appiombato, forti e asciutti; piedi forti, ben

serrati con suola alta, pastoie forti. Le natiche con profilo rettilineo con garretti larghi e piatti. La mammella saldamente attaccata, vene addominali prominenti e tortuose, vene mammarie molto ramificate, tessuto spugnoso ed elastico. Il legamento sospensorio mediano forte che divide nettamente la mammella in due parti uguali. I capezzoli perpendicolari al suolo di giuste dimensioni (circa 6 cm), inseriti al centro di ciascun quarto.

Il toro presenta caratteristiche morfologiche simili sia per colore del mantello sia per conformazione; tuttavia, i caratteri morfologici rispecchiano la mascolinità del soggetto, che si riflette in una maggior mole e potenza dello stesso (ANAFIBJ).

Per quanto riguarda i vitelli, alla nascita, il peso si attesta a partire dai 40 kg fino a superare in alcuni casi i 55 kg nei maschi. Nei primi tre mesi di vita hanno un accrescimento sostenuto, sia in altezza che in peso, pari a 2 mm e quasi 900 g/giorno (ANAFIBJ).

3. L'efficienza alimentare nelle bovine da latte

L'efficienza alimentare è diventata una delle principali preoccupazioni nell'allevamento delle bovine da latte, in quanto incide direttamente sulla sostenibilità economica ed ambientale del settore. Raggiungere un equilibrio tra la produzione di latte e l'efficienza nell'utilizzo delle risorse alimentari è fondamentale per ottimizzare la redditività dell'allevamento e ridurre l'impatto ambientale.

L'efficienza alimentare nelle bovine da latte si riferisce alla capacità di un animale di convertire in maniera ottimale il cibo consumato in produzione di latte. In altre parole, è la misura di quanto efficientemente un bovino riesce a trasformare l'ingestione di alimenti in latte prodotto. Maggiore è l'efficienza alimentare, minore è il quantitativo di alimenti necessario per produrre una determinata quantità di latte, il che si traduce in un risparmio economico e in una minore impronta ambientale.

3.1 Comportamento alimentare delle bovine

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 ruminanti è prevalentemente diurna e si suddivide in diversi pasti, identificando il pasto principale come quello effettuato all'alba (Fujihara, 1981). Generalmente, 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, lo stato fisico, l'età e il tipo di alimento (Pearce e Moir, 1964). 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 (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 un graduale calo durante il giorno (in particolare dopo la somministrazione mattutina) e una graduale risalita durante la notte (Kononoff *et al.*, 2003). Questa variazione diurna di pH e ingestione è inversamente correlata, 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'*unifed* 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. 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. 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.

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.* (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 Armenitano, 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 ruminante; 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 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 (Albright, 1993). 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 sostanza secca ingerita (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; 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 (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 (Humer *et al.*, 2015). 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 (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.

4. Materiali e Metodi

4.1 Scopo della ricerca

Il presente elaborato si inserisce all'interno di una collaborazione tra il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna e l'Associazione Nazionale Allevatori della razza Frisona, Bruna e Jersey Italiana (ANAFIBJ). L'obiettivo della tesi era quello di validare gli indici genomici per l'efficienza alimentare predetta, noti come PFE (*Predicted Feed Efficiency*), utilizzando dati reali di campo sull'assunzione di sostanza secca (DMI) in un contesto di allevamento da latte. Questo lavoro è di estrema importanza poiché permette di dimostrare l'associazione tra predizione genomica e performance animale per un parametro, l'efficienza alimentare, di difficile misurazione in condizioni operative e routinarie di una normale stalla commerciale.

4.2 Stalla sperimentale

I dati fenotipici utilizzati per il presente studio sono stati raccolti presso l'azienda sperimentale dell'Università di Bologna, situata presso il Comune di Ozzano dell'Emilia (BO), in via Tolara di Sopra, 73. Pur essendo una stalla didattico-sperimentale, l'allevamento è a tutti gli effetti un'azienda commerciale, in cui giornalmente vengono prodotti circa 3000 litri di latte. Il latte viene poi consegnato al gruppo Granarolo SpA. La stalla è dotata di tecnologie che hanno consentito di svolgere in modo adeguato la ricerca attraverso il completo e puntuale controllo dei parametri fisiologici e produttivi delle bovine in prova. La struttura ospita mediamente 100 bovine in lattazione e circa 90 capi fra asciutte e rimonta. Tutti gli animali presenti in azienda sono di razza Frisona italiana, iscritti al libro genealogico della razza Frisona Italiana gestito dall'ANAFIBJ.

La stalla risponde alle specifiche esigenze delle vacche nelle diverse fasi del ciclo produttivo; sono presenti ambienti distinti per zona di alimentazione, di riposo, di esercizio e di mungitura. La zona di alimentazione ha come principale funzione quella di rispondere alle esigenze alimentari dell'animale, cercando però di evitare l'insorgenza di stress dovuti a un eccessivo affollamento. La zona di riposo delle bovine in lattazione è organizzata in cuccette. La stalla è dotata dei sistemi più moderni per la pulizia automatica dei pavimenti e per il controllo della ventilazione e delle elevate temperature dell'estate che sono fonte di stress per le bovine. Di ogni bovina tutti i giorni sono registrati a mezzo

di sistemi automatici di controllo e di telecamere, le distanze percorse, il tempo speso in movimento e in riposo, i tempi spesi alla mangiatoia e per la ruminazione.

4.2.1 Stazione sperimentale

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 stazione sperimentale può accogliere otto animali per volta, selezionati tra i soggetti stabulati presso la struttura del DIMEVET. Nello specifico il presente lavoro di tesi ha riguardato l'analisi dei dati delle prove nutrizionali svolte nel periodo compreso tra il 2015 e il 2022 (Tab.1).

Autori	Titolo dello studio	Scopo dello studio
Cavallini <i>et al.</i> (2023)	Evaluation of fecal sampling time points to estimate apparent nutrient digestibility in lactating Holstein dairy cows.	Valutare le varie modalità di escrezione dei nutrienti nei campioni di feci raccolti ogni 2 ore al fine di definire il miglior protocollo di campionamento per la stima della digeribilità apparente. Su tali campioni sono state eseguite analisi chimiche complete e la digeribilità totale dei nutrienti nel tratto digerente è stata calcolata utilizzando come marcatore la fibra neutro detersa non degradata a 240 ore di fermentazione in vitro (uNDF240h). Durante la prova è stato registrato anche il comportamento alimentare e ruminale.

Mammi <i>et al.</i> (2022)	Combined Inclusion of Former Foodstuff and Distiller Grains in Dairy Cows Ration: Effect on Milk Production, Rumen Environment, and Fiber Digestibility.	Analizzare la possibilità di introduzione di alcuni sottoprodotti agro-industriali non convenzionali, come gli ex alimenti o i residui di distillazione, nella catena alimentare animale, contribuendo così ad aumentare la sostenibilità della produzione di bestiame, riducendo anche la necessità di risorse naturali come il suolo coltivabile, l'acqua, i fertilizzanti e i combustibili, e di conseguenza una riduzione dell'impatto delle esigenze animali.
Cavallini <i>et al.</i> (2022)	Effect of an Immunomodulatory Feed Additive in Mitigating the Stress Responses in Lactating Dairy Cows to a High Concentrate Diet Challenge.	Determinare l'effetto di OmniGen-AF sull'immunità(innata), infiammazione e funzione epatica nelle vacche da latte in lattazione alimentate con una dieta ad alto contenuto di amido e bassa fibra. Sono stati registrati cambiamenti nel processo di ruminazione, nel pH e nel profilo degli acidi grassi volatili.
Cavallini <i>et al.</i> (2021)	Immune-metabolic-inflammatory markers in Holstein cows exposed to a nutritional and environmental stressing challenge.	Valutare gli indicatori immunologici e metabolici delle vacche da latte dopo la somministrazione improvvisa di una dieta ad alto contenuto di cereali (75% concentrati) e il repentino cambiamento del sistema di stabulazione (da libera a fissa).
Buonaiuto <i>et al.</i> (2021)	The accuracy of NIRS in predicting chemical composition and fibre digestibility of hay-based total mixed rations.	Sviluppare modelli di predizione mediante spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) per la stima dei componenti chimici e delle frazioni indigeribili delle fibre (uNDF) nelle razioni <i>unifeed</i> (TMR) a base di foraggi affienati.

Cavallini <i>et al.</i> (2021)	Effects of 00-rapeseed meal inclusion in Parmigiano Reggiano hay-based ration on dairy cows' production, reticular pH and fibre digestibility.	Valutare gli effetti della sostituzione della farina di soia con diversi tipi di farina di semi di colza 00 attualmente esclusa dalle diete delle vacche da latte, al fine di valutare la possibilità in futuro di includerla nella regolamentazione del Parmigiano Reggiano.
Mammi <i>et al.</i> (2021)	Automatic Monitoring Systems to Detect Behavioral and Productive Variations during Heat Stress in Dairy Cows.	Valutare le variazioni comportamentali e produttive delle vacche da latte rilevate dai sistemi di monitoraggio automatico, durante diverse stagioni. I dati ambientali (temperatura (T, °C), umidità relativa (RH, %) e indice di temperatura e umidità (THI)) sono stati registrati all'interno dello stabulario tramite sonde elettroniche.
Fustini <i>et al.</i> (2017)	Effect of undigested neutral detergent fiber content of alfalfa hay on lactating dairy cows: Feeding behavior, fiber digestibility, and lactation performance.	Analizzare gli effetti di due tipi di fieno di erba medica con diverso contenuto di fibre detergenti neutre non digeribili e diversa digeribilità, utilizzati come principale fonte di foraggio nelle diete somministrate a vacche ad alta produzione coinvolte nella produzione di formaggio Parmigiano-Reggiano.
Bonfante <i>et al.</i> (2016)	Effects of a completely pelleted diet on growth performance in Holstein heifers.	Lo scopo dello studio era valutare gli effetti sulla salute del rumine, sulla digeribilità della NDF (fibra neutro detersa) e sulle performance degli animali sottoposti ad una dieta a base di foraggio pellettato. Le diete formulate avevano gli stessi ingredienti ma avevano una diversa forma fisica: <i>unifeed</i> (TMR) e pellet (diametro = 8 mm).
Mammi <i>et al.</i> (2015)	Influence of monensin continuous release intraruminal device on milk and whey starter quality used for Parmigiano Reggiano cheese production.	Valutare gli effetti del trattamento effettuato tramite il dispositivo intraruminale a rilascio continuo di monensin (Kexx-tone), sulla qualità del latte e del siero di avviamento

utilizzati per la produzione del formaggio Parmigiano Reggiano.

Tab.1- Prove nutrizionali svolte nel periodo compreso tra il 2015 e il 2022 presso l'Alma Mater Studiorum-Dimevet

Gli animali rimangono in questa sezione della stalla per tutta la durata della prova sperimentale (in genere di 84 giorni), divisi in più periodi sperimentali (in genere 4), della lunghezza di 21 giorni. Di questi, gli ultimi sette sono stati dedicati alla raccolta di dati e campioni mentre i precedenti sono stati effettuati allo scopo di adattare gli animali alla nuova dieta e studiare gli effetti del cambio di regime alimentare.

4.2.2 Sistema di mungitura

La stalla è dotata di due stazioni di mungitura robotizzata (Fullwood®, modello Merlin²) potenzialmente in grado di gestire fino a 60 animali ciascuna. Ogni robot è dotato di un sistema di prendicapezzoli portato sul braccio robotizzato, un sistema di pulizia della mammella a spazzole controrotanti, un sistema di riconoscimento laser infrarosso a triangolazione e di un autoalimentatore (Fig.1).

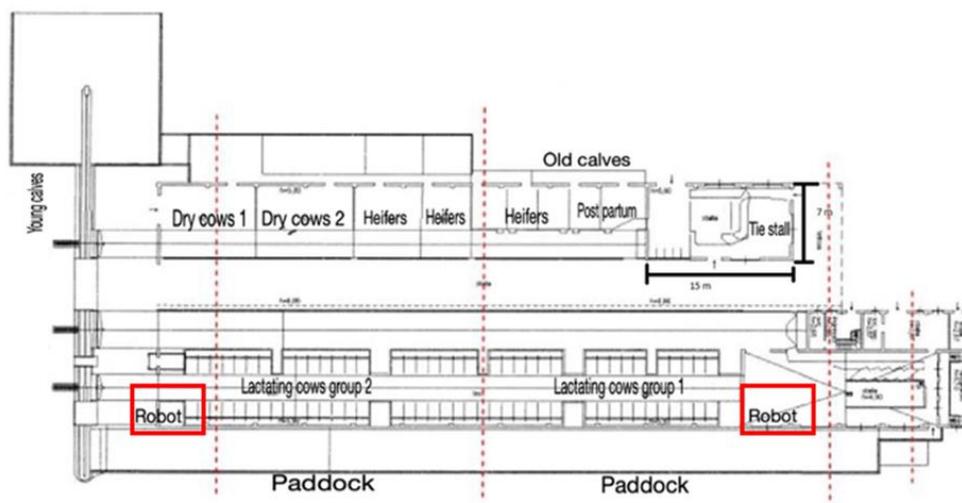


Fig.1-Pianta della struttura d'allevamento (fonte: schemi forniti dall'azienda).

Il sistema di mungitura Merlin² prevede che le tettarelle siano portate direttamente sul braccio robotizzato. Il tutto è azionato da attuatori esclusivamente elettrici che

permettono di avere una grande precisione e di non spaventare gli animali. Il sistema di individuazione dei capezzoli avviene attraverso un laser a triangolazione che viene deterso in automatico ad ogni mungitura al fine di consentire l'aggancio più precisamente e velocemente.

Per il *pre-dipping* il sistema utilizza due spazzole controrotanti, il cui compito è quello di igienizzare i capezzoli prima dell'aggancio della tettarella e stimolare il rilascio dell'ossitocina per ottenere una mungitura completa. Le due spazzole controrotanti al termine di ogni ciclo vengono retratte e irrorate con una soluzione disinfettante.

Una volta definita la posizione dei capezzoli il braccio robotizzato inizia con le operazioni di attacco della singola tettarella, partendo sempre dai capezzoli posteriori per poi passare a quelli anteriori.

La mungitura viene effettuata sul singolo quarto in base al livello di flusso di latte; infatti, le tettarelle del robot possono terminare la fase di mungitura indipendentemente le une dalle altre, sottoponendo così i singoli quarti ad un minore stress ed evitando il fenomeno della sovrampungitura. Al termine di ogni mungitura il robot procede con il *post-dipping*, grazie ad uno *sprayer* che applica un velo di prodotto disinfettante sul singolo quarto al fine di ridurre il rischio di possibili infezioni.

Il traffico degli animali è libero per entrambi i robot, cioè consente agli animali di recarsi spontaneamente presso la stazione di mungitura senza dover effettuare percorsi obbligati. L'unica eccezione riguarda le vacche puerpere che vengono mantenute in una zona di stabulazione differente per un periodo di almeno cinque giorni; queste vacche vengono indirizzate dagli operatori presso il robot regolarmente due volte al giorno.

Le bovine possono recarsi presso il robot fino a sei volte ogni 24 ore, a patto che tra due mungiture successive siano trascorse almeno quattro ore. Nel caso in cui non fosse trascorso il tempo minimo dall'ultima mungitura, la paratia mobile del box di contenimento si aprirebbe per fare uscire l'animale. Nel caso in cui un animale fosse restio ad andare in mungitura autonomamente è compito degli operatori dell'allevamento accompagnare l'animale al robot dopo un massimo di dieci ore dall'ultima mungitura.

La rilevazione della quantità di latte prodotta avviene in maniera automatica mediante il lattometro elettronico MPC inserito direttamente nelle stazioni di mungitura. La rilevazione viene fatta individualmente per ogni vacca per ogni mungitura. I dati giornalieri

ottenuti sono archiviati dal software gestionale Crystal (Fullwood-Packo – U.K.). Subito dopo l'uscita del robot è inoltre posizionata una bilancia elettronica che permette di pesare gli animali al termine della mungitura.

La stalla è dotata di un sistema di misurazione RuminAct[®], per monitorare i tempi di ruminazione e di un sistema di controllo del THI (*Temperature Humidity Index*). È presente, inoltre, una stazione sperimentale in cui possono essere presenti 8 poste fisse dotate di mangiatoie collegate a delle bilance per la registrazione del peso dell'alimento somministrato. Le vacche sono state dotate di boli ruminali per il controllo del pH e della temperatura reticolo-ruminale.

Le bovine sono alimentate con una razione *unifeed* parziale (dall'inglese *Partial Mixed Ration*, PMR), preparata attraverso un carro trincia miscelatore Zago[®] da 13m³ (Campo San Martino – Padova, Italia). La razione PMR standard ha lo scopo di coprire i fabbisogni delle bovine durante le differenti fasi ed evitare problemi metabolici. Il PMR è stato fornito quotidianamente tra le ore 6.30 e le 7.30. Il carro trincia miscelatore è dotato di bilancia per la pesatura puntuale delle materie prime caricate e successivamente dell'*unifeed* scaricato in mangiatoia. Per determinare l'ingestione media del gruppo di bovine in lattazione, gli operatori ogni tre giorni hanno provveduto alla pulizia completa della mangiatoia e alla pesatura del materiale residuo.

Le ricette delle razioni *unifeed* impiegate sono riportate in Tab.2.

Ingrediente	
Fieno di medica, kg	10.00
Fieno di graminacee, kg	3.50
Mangime carro, kg	4.00
Fiocco mais-sorgo, kg	6.00
Melasso, kg	-
Grasso idrogenato, kg	
Acqua, Litri	10.00

Tab.2 - Razioni somministrate (kg/capo/giorno)

Il supplemento di concentrato (Tab.3), in forma pellettata, è stato fornito su base individuale tramite gli autoalimentatori presenti in corsia o in associazione al robot di mungitura. Il podometro permette il riconoscimento dell'animale e il sistema gestionale

Afffarm®, in base alla produzione di latte, allo stadio di lattazione, assegna la quota di mangime da distribuire.

Ingrediente	%
Crusca G.T.	20.00
Mais estero	20.00
Sorgo B.T.T.	20.00
Farina di estrazione di soia proteina 48%	14.00
Soia tostata	13.00
Carruba denocciolata	7.82
Melasso di canna	3.00
Carbonato di calcio	1.00
Sale	0.98
Magnesio ossido	0.20

Tab.3 - Composizione del mangime supplementare

Oltre, quindi, ad un monitoraggio individuale e continuo di tutta una serie di parametri zootecnici, le bovine della stalla sono sottoposte anche a test del DNA tramite la tecnologia del DNA chip. Questa tecnologia mira a determinare il genotipo delle variazioni a singolo nucleotide (SNP) presenti nel pannello utilizzato in fase di genotipizzazione. Partendo dal presupposto che gli SNP hanno la caratteristica di essere biallelici e di essere distribuiti in maniera casuale lungo tutto il genoma di un animale, il genotipo determinabile per ciascuno SNP studiato può essere AA, AB, o BB. Normalmente, la densità del DNA chip utilizzato è di 50k (Bovine SNP50K, v2 BeadChip, Illumina Inc., San Diego, CA, USA); tuttavia, in particolare per gli animali testati genomicamente tra il 2017 e il 2019, la densità del DNA chip poteva essere più bassa. Per poter condurre un'analisi con DNA chip, è sufficiente raccogliere un campione biologico, normalmente un tampone nasale. Questo campione viene poi inviato all'ANAFIBJ che si occupa di farlo analizzare *in service*. I risultati del test genomico vengono ritornati entro 20 giorni all'ANAFIBJ che si occupa del loro stoccaggio ed elaborazione.

Poiché in commercio diversi DNA chip possono presentare diversi pannelli di SNP, spesso i risultati delle analisi sono difficili da unire in un unico archivio da utilizzare per il calcolo degli indici genomici. Di conseguenza, per ovviare a questo problema di incompatibilità tra DNA chip, l'ANAFIBJ, come tutti gli enti selezionatori, ha messo a punto un sistema di imputazione. Questo sistema è finalizzato a predire il genotipo di uno

SNP mancante (perché non determinato da un laboratorio di analisi genomiche) sulla base delle informazioni anagrafiche di quel soggetto e sulla base del genotipo di altri SNP con cui lo SNP è in *linkage disequilibrium*, con cui quindi tende ad essere ereditato assieme. Per svolgere questo processo, l'ANAFIBJ ha individuato un pannello di SNP “standard” di 69.952 SNP distribuiti su tutti e 29 gli autosomi in modo da garantire massima copertura del genoma. L'imputazione viene effettuata tramite il software PedImpute (Nicolazzi *et al.*, 2013) con errore di predizione molto basso (inferiore all'1%). Questi dati sono poi sottoposti a un normale controllo qualità finalizzato a:

1. Eliminare SNP con call rate < 0.95;
2. Eliminare SNP con minor allele frequency < 0.02;
3. Eliminare SNP che deviano in maniera molto significativa ($P < 0.005$) dall'equilibrio di Hardy-Weinberg.

4.3 Calcolo degli indici e analisi statistica

Calcolo degli indici genomici. Una volta effettuata l'imputazione e i controlli di qualità sugli SNP, i genotipi possono essere utilizzati dall'ANAFIBJ per la predizione degli indici genomici sulla base di una valutazione genomica multiple step. Questo processo prevede una prima fase in cui si ha un calcolo degli indici genetici “classici”, seguita da una seconda fase in cui, sulla popolazione di riferimento, vengono calcolati gli effetti di sostituzione allelici per ciascuno SNP ritenuto dal controllo di qualità. Il calcolo degli indici genetici per il carattere PFE è descritto in Finocchiaro *et al.* (2020). Il fenotipo PFE è definito secondo la seguente formula:

$$PFE = \frac{ECM}{pDMI},$$

dove ECM sta per latte corretto per il contenuto energetico (*energy corrected milk*), e pDMI sta per ingestione alimentare predetta (*predicted dry matter intake*). Il parametro ECM è una modalità di correzione del latte prodotto singolarmente da una vacca su un contenuto standard di grasso e proteina (rispettivamente 4% e 3,30%) ed è calcolato partendo dalla produzione di latte giornaliera e dal relativo contenuto di grasso e proteina (in %) corretti per dei coefficienti specifici (Sjaunja *et al.*, 1990). Il parametro pDMI è invece calcolato sulla base di un'ulteriore correzione della produzione di latte per il contenuto di grasso (*fat-corrected milk*, FCM) e del peso vivo metabolico (National Research Council, 2001). Infine, il peso vivo è calcolato sulla base di alcuni parametri morfologici

misurati quali età alla punteggiatura, statura, profondità, larghezza del torace e della groppa (Finocchiaro *et al.*, 2017). Una rappresentazione schematica di questo processo di predizione per la determinazione del fenotipo PFE è riportata di seguito (Fig. 2; Monti *et al.*, 2018):

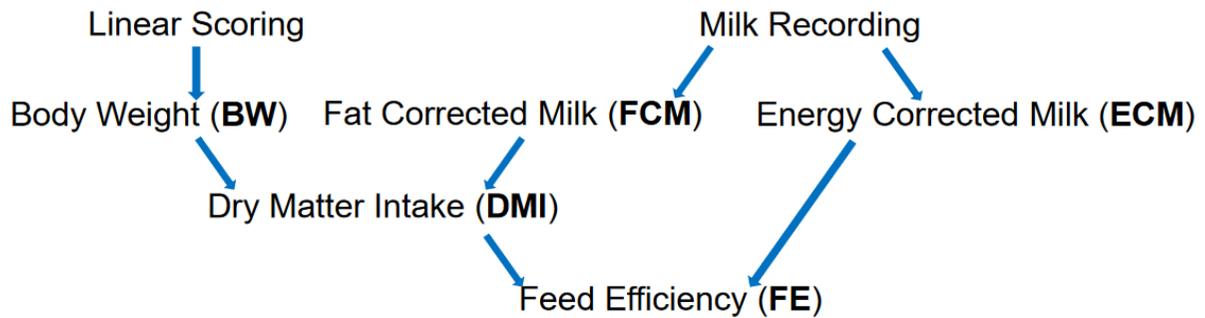


Fig.2- Processo di determinazione del fenotipo PFE utilizzato nella valutazione genetica routinaria dell'ANAFIBJ. (Monti *et al.*, 2018)

Questa predizione permette di avere un fenotipo di efficienza alimentare ripetuto entro e tra lattazioni a livello di popolazione, in quanto quantità e qualità del latte sono un parametro determinato mensilmente sulla base dei controlli funzionali. Inoltre, anche il dato di valutazione morfologica è già disponibile a livello di popolazione.

Tramite quindi la metodologia statistica BLUP, che elabora le informazioni fenotipiche sulla base di un modello statistico finalizzato a epurarle dagli effetti ambientali sistematici e aggiustandole per una matrice di parentela genetico-additiva (**A**), l'ANAFIBJ nell'ambito della valutazione genetica e genomica, distribuisce per tutti i tori con figlie in Italia e per tutte le bovine genotipizzate. A fini del calcolo degli indici genomici, l'ANAFIBJ ha individuato una popolazione di riferimento, rappresentata da tori con figlie in Italia con indice genetico ad elevata attendibilità. La popolazione di riferimento ha la funzione di essere il database su cui calcolare l'associazione tra EBV e ciascuno degli SNP presenti nel pannello standard. In altre parole, su questa popolazione vengono stimati gli effetti di sostituzione allelica per ciascuno SNP, che poi vengono utilizzati per la predizione genomica sul resto della popolazione genotipizzata, come le bovine della stalla sperimentale del DIMEVET, su cui si ha a disposizione il dato genomico. Gli indici genomici, così come le informazioni su tutta una serie di fattori genetici e aptotipi, sono

resi pubblici alla comunità sul sito dell'ANAFIBJ tramite il servizio GENOCOW disponibile al seguente link (<http://genoweb.anafi.it/AR/ListaSoggetti.aspx?lang=it-IT>). L'ereditabilità del carattere PFE è 0,32 (Finocchiaro *et al.*, 2020). Gli indici genomici PFE, come tutti gli indici funzionali di ANAFIBJ, sono pubblicati su media 100 e deviazione standard 5. Animali con indice > 100 indicano animali che, da un punto di vista genetico-additivo, sono più efficienti da un punto di vista alimentare.

Analisi statistica. Tutta l'analisi statistica è stata svolta utilizzando il software SAS versione 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Una volta raccolti tutti gli indici genomici disponibili sulle vacche presenti e non della stalla sperimentale del DIMEVET (n=279), questi indici genomici sono stati uniti al database creato *ad hoc* contenente i dati di ingestione individuale e comportamento alimentare raccolti nell'ambito delle attività sperimentali descritte in Tab. 1. Le statistiche descrittive sono state calcolate tramite la PROC MEANS, mentre i coefficienti di correlazione di Pearson (r) tra DMI misurata e altri indici genomici disponibili sulle vacche coinvolte nello studio sono stati calcolati tramite la PROC CORR. Per quantificare l'associazione tra indice genomico e ingestione di sostanza secca (DMI) i dati sono stati analizzati secondo il seguente modello lineare misto tramite la PROC MIXED:

$$DMI_{ijklmn} = \mu + PFE_j + DIM_k + MY + cow_l(trail_m) + cg_n + e_{ijklmn},$$

Dove DMI_{ijklmn} è l'ingestione di sostanza secca (Kg/d), μ è l'effetto della media generale del modello, PFE_j è l'effetto fisso della j -esima classe di indice genomico PFE (2 classi: <100; \geq 100); DIM_k è l'effetto fisso della k -esima classe di stadio di lattazione (2 classi: < 120 DIM; \geq 120 DIM, dove DIM rappresenta i giorni di lattazione); MY è l'effetto della covariata lineare della produzione di latte giornaliera; $cow_l(trail_m)$ è l'effetto casuale della l -esima vacca nested con la m -esima prova sperimentale $\sim N(0, \sigma_{cow(trail)}^2)$; cg_n è l'effetto casuale dell' n -esimo gruppo di contemporanee $\sim N(0, \sigma_{cg}^2)$; e_{ijklmn} è l'effetto casuale del residuo $\sim N(0, \sigma_e^2)$. Le differenze tra medie stimate degli effetti fissi sono state poste come significative ad un $p < 0.05$. I dati sono stati analizzati separatamente tra primipare e multipare.

5. Risultati

Le statistiche descrittive per gli indici di selezione, indice genomico PFE e DMI (distinto tra primipare e pluripare) sono rappresentate in Tab. 4. In questa tabella è anche presente il coefficiente r tra DMI e gli altri caratteri presenti in Tab. 4. Tra gli indici è presente il PFT, ovvero indice di produttività, funzionalità e tipo. Si tratta di un indice composto da vari caratteri oggetto di selezione, soprattutto legati alla qualità del latte, ad alcune caratteristiche morfologiche lineari ma rientrano in questo indice anche l'ICM (Indice Composto Mammella), l'IAP (Indice Arti e Piedi), Indice di longevità e il carattere della fertilità (Sandrucci *et al.*, 2022). Sulla base di questo indice si calcolano la classifica ed il *rank* ufficiale che va da 0 a 99 e divide la popolazione indicizzata in percentili. Il *rank* è calcolato in modo separato sui tori e sulle vacche. (ANAFIBJ,2021).

Un altro indice presente nella tabella è l'IES ossia l'indice economico salute che ha l'obiettivo di massimizzare il progresso genetico, sia da un punto di vista economico sia dal punto di vista dei caratteri che riguardano la salute e il benessere dell'animale. L'indice si basa sulla stima dei costi e dei ricavi medi nell'arco dell'intera carriera produttiva della bovina. I ricavi sono determinati dal prezzo medio del latte e dai parametri di pagamento qualità. Nei costi invece sono considerati e quindi quantificati i costi richiesti per l'allevamento della manza, tenendo conto dei fabbisogni di sostanza secca necessari per accrescimento, mantenimento e produzione, i costi legati alle problematiche sanitarie. Tale indice viene espresso come differenza economica attesa (€) dei singoli animali (o delle figlie dei tori) rispetto alla base genetica di riferimento. È un indice che ha bisogno di continuo aggiornamento sia per quanto riguarda le stime dei valori economici, per adeguarli ai prezzi di mercato, sia per l'introduzione di nuovi indici genetici per benessere animale, resistenza alle malattie, efficienza alimentare e impatto ambientale che nel tempo si renderanno disponibili. Questo indice è espresso come utile netto, stimato sull'intera vita di una singola vacca (€) rispetto all'intera popolazione (ANAFIBJ, 2021). Nella tabella tra gli indici noti è stato inserito anche l'indice ICS-PR cioè l'Indice Caseificazione e Sostenibilità Parmigiano Reggiano. È un indice che ha come obiettivo la selezione di animali le cui figlie hanno il potenziale di massimizzare il profitto aziendale, in ambito di trasformazione casearia, in particolare per la produzione di formaggi a pasta dura a lunga stagionatura. L'indice deve considerare i nuovi orientamenti normativi

nell'allevamento, essere redditizio per l'allevatore ed essere sostenibile nel contesto etico, socio-economico e ambientale. L'indice è basato sulla stima dei costi e dei ricavi medi per lattazione nell'arco dell'intera carriera produttiva della bovina. Naturalmente come accadeva per l'Indice Economico Salute, tra i costi si considerano tutti quelli legati all'allevamento della manza e quelli legati alla trasformazione e trasporto del latte. Invece per i ricavi, si considerano tutti quelli stimabili durante l'intera carriera produttiva della bovina e il valore dell'animale a fine carriera. Inoltre nell'indice si prevede anche la resa dei kg di formaggio, in termini di grasso, proteine, cellule somatiche e genotipi della k-caseina. Anche in questo caso è espresso come utile netto, stimato sull'intera vita di una singola vacca (€) rispetto alla media della popolazione (ANAFIBJ, 2021).

Infine, tra gli indici presenti in Tab. 4 è stato inserito anche il PFE. I risultati nella Tab. 4 indicano che il PFT medio delle bovine impiegate nel presente studio è di 2878,62 punti con una deviazione standard di 572,09 punti. Per quanto riguarda gli altri due indici aggregati, IES e ICS-PR, è stata calcolata rispettivamente una media di 309,01 e 32,41 €, con una deviazione standard di 298,34 € (IES) e di 444,60 € (ICS-PR). Per quanto riguarda l'indice PFE, invece, la media è di 99,34 (quindi leggermente sotto la media di popolazione) con una deviazione standard di 1,98 e un range di 13 punti. Il DMI medio giornaliero è risultato essere di 23,95 kg/d nelle primipare (deviazione standard: 3,46, range: 26,08) e di 27,10 kg/d nelle pluripare (deviazione standard: 4,21, intervallo: 31,39). La correlazione tra PFE e DMI è risultata essere debole e negativa, con un coefficiente r pari a -0.14 (Tab. 4).

Tab.4 - Statistica descrittiva dei tratti considerati nella presente tesi.

Tratto	N	Media	SD ²	Range	r con DMI ³
PFT, unit	279	2878,62	572,09	3088	-0,10
IES, €	279	309,01	298,34	1717	-0,13
ICS-PR, €	279	32,41	444,60	2555	-0,14
PFE, unit	279	99,34	1,98	13	-0,14
DMI (kg/die)					
Primipare	1674	23,95	3,46	26,08	
Pluripare	3660	27,10	4,21	31,39	

²Rappresenta la deviazione standard dei valori di ciascun tratto.³r con DMI: Questa colonna rappresenta il coefficiente di correlazione di Pearson tra il PFE e il consumo di materia secca (DMI).

Questo valore indica che vi è una tendenza per le bovine con un merito genetico più elevato per PFE a consumare una quantità inferiore di sostanza secca rispetto a quelle con un merito genetico più basso per l'efficienza alimentare. Correlazioni di simile magnitudine e segno sono state calcolate anche con gli indici di selezione PFT, IES e ICS-PR. Questo dato suggerisce che selezionando per uno di questi tre indici, che migliorano anche e non solo la produttività degli animali, indirettamente seleziona per animali che ingeriscono meno e quindi risultano essere più efficienti da un punto di vista alimentare. Nelle Fig. 3 e 4 sono indicate le medie stimate di DMI nelle primipare e pluripare per l'effetto dell'indice genomico PFE. Le differenze tra le medie di PFE non sono risultate statisticamente significative, indicando che non vi è una differenza statisticamente rilevante nel consumo di materia secca tra i gruppi di bovine con diversi livelli di efficienza alimentare. In particolare, le differenze tra le medie stimate dei due livelli di PFE sono state di -0.23 (errore standard = 1.10; $P > 0.05$) kg DMI/d per le bovine primipare e di -0.26 (errore standard = 0.75; $P > 0.05$) kg DMI/d per le bovine pluripare. Tuttavia, le stime indicano però che, indipendentemente dagli effetti sistematici utilizzati nel modello statistico e a parità di livello produttivo, le bovine con un merito genetico più elevato per l'efficienza alimentare hanno un consumo di sostanza secca individuale giornaliero inferiore rispetto a quelle con un merito genetico più basso (Fig.3 e Fig.4).

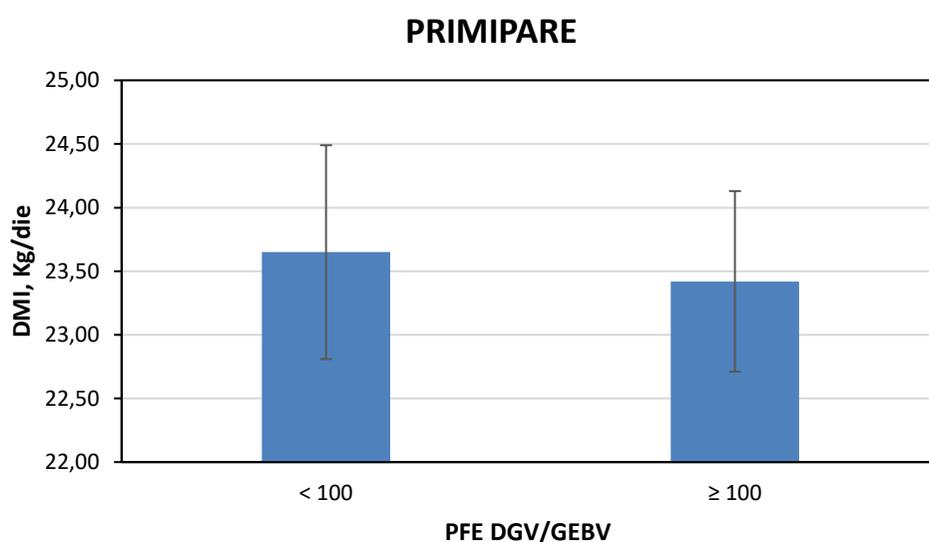


Fig.3 - Grafico che mostra correlazione tra consumo DMI ed efficienza alimentare nelle vacche primipare.

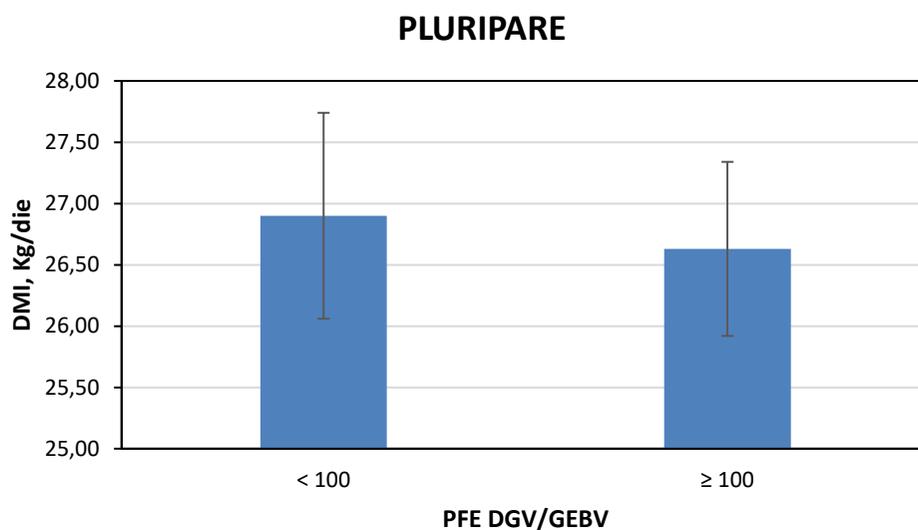


Fig.4 - Grafico che mostra correlazione tra consumo DMI ed efficienza alimentare nelle vacche pluripare.

Quindi in base alle informazioni rilevabili dai grafici, sembra che le bovine più efficienti dal punto di vista dell'efficienza alimentare (PFE > 100) abbiano una riduzione del 1% nel consumo di materia secca (DMI) rispetto a quelle con un PFE inferiore. Inoltre, questa riduzione del DMI corrisponde a un risparmio di 3027 € all'anno in una stalla con 100 bovine, considerando un costo della razione di 0.39 € per chilo-grammo di materia secca (DM).

6. Discussione

L'obiettivo principale di questo studio è di quantificare la differenza fenotipica di ingestione alimentare di bovine che si caratterizzano per un merito genetico per il carattere PFE diverso. L'efficienza alimentare costituisce attualmente una questione di rilevanza notevole nell'ambito dell'allevamento lattiero-caseario. In questo contesto, la presente ricerca si prefigge di verificarne l'attendibilità attraverso il confronto tra i valori genetici predetti per l'efficienza alimentare e i dati reali relativi al consumo di alimento, raccolti direttamente sul campo. Nello studio sono impiegati indici genomici PFE calcolati dall'ANAFIBJ nell'ambito delle valutazioni genetiche e genomiche nazionali. Questi valori vengono confrontati con i dati reali di assunzione di sostanza secca raccolti da vacche coinvolte in studi di sperimentazioni nutrizionali. L'intento principale è quello di determinare se le vacche con un elevato merito genetico per l'efficienza alimentare dimostrino concretamente una minor assunzione di cibo rispetto a vacche con un merito genetico inferiore.

Nonostante i risultati di questo studio non siano significativi da un punto di vista statistico, è comunque evidenziata una tendenza ad osservare un'ingestione alimentare inferiore in vacche caratterizzata da indice genomico superiore alla media di popolazione. Anche i risultati dalla correlazione r sono incoraggianti e dimostrano che l'indice è corretto nell'identificare quegli animali che a parità di produzione di latte ingeriscono di meno.

Va tenuto in considerazione che i risultati del presente studio sono stati analizzati con un modello lineare misto, separatamente per le primipare e le pluripare, con la correzione della variabile dipendente DMI per gli effetti fissi della produzione di latte giornaliera (covariata lineare) e i giorni di lattazione (<120 o ≥ 120). Di conseguenza le medie stimate calcolate dal modello sono epurate da questi effetti. Infine, va tenuto in considerazione che la mancanza di significatività statistica può essere dovuta anche ad una ridotta numerosità del campione utilizzato nel presente studio. È verosimile, infatti, che ripetendo questa analisi in futuro con una mole di dati maggiore, gli errori standard si riducano e che quindi sia possibile determinare una significatività nelle differenze tra medie stimate. Questo perché l'errore standard di una classe è influenzato dall'effettiva numerosità dei campioni in quella stessa classe.

Ottenere una maggior efficienza alimentare è importante, perché determina anche una

riduzione della produzione giornaliera di metano enterico negli animali selezionati per una ridotta ingestione alimentare residua (RFI). La RFI è spesso assimilabile all'efficienza alimentare, poiché un animale che consuma meno cibo, ma mantiene una simile velocità di crescita (alta efficienza netta del cibo), ha quindi bisogno di meno cibo per produrre. Questo dimostra le possibilità di selezione per emissioni ridotte di gas a effetto serra, tramite la selezione di animali che utilizzano meno cibo e producono meno metano rispetto alla media per raggiungere un determinato livello di prestazione (Herd *et al.*, 2002).

L'assunzione di cibo ha una grande influenza sulla quantità di metano prodotta durante la fermentazione enterica. Basarab *et al.* (2013) descrivono tre ipotesi che spiegano come avviene questa influenza:

- 1) Gli animali con un'alta efficienza alimentare assumono quantità minori di cibo, pur mantenendo gli stessi livelli di produzione e mantenimento corporeo. Una minore assunzione di cibo porta a una minore produzione di metano, pur mantenendo i processi metabolici e di produzione allo stesso livello di vacche con una minore efficienza alimentare.
- 2) Il livello di assunzione di cibo influenza il tempo in cui il cibo rimane nel rumine, così come il volume del rumine. Quando il tempo di permanenza nel rumine diminuisce, la quantità di metano prodotta sarà inferiore.
- 3) Un'alta efficienza alimentare può influenzare anche il comportamento e la digestione, causando un cambiamento nella risposta delle comunità microbiche. Ciò causa a un passaggio da acetato a propionato, il che ridurrà la quantità di idrogeno disponibile per la formazione di metano.

Inoltre, precedente al nostro studio anche Ferris *et al.* (1999) hanno mostrato che le vacche Holstein-Friesian con un merito genetico medio (per la produzione) hanno emissioni più alte di azoto e metano per unità di N e di energia lorda rispetto alle vacche con un alto merito genetico. Ciò suggerisce che le vacche con un alto merito genetico convertono in modo più efficace i componenti energetici e proteici del cibo rispetto a quelle con un merito genetico medio.

Ulteriori studi aiuterebbero a comprendere meglio questo parametro, la cui definizione spesso oscilla tra il consumo di materia secca (DMI) al consumo residuo di alimenti

(RFI), avendo presente che il RFI è essenzialmente il DMI corretto per diversi parametri come il peso corporeo e il latte corretto per l'energia. Altre definizioni di PFE si collocano tra questi due estremi, come il *Feed saved*, che combina RFI e la parte di DMI necessaria per mantenere il peso corporeo (Tempelman *et al.*, 2020).

A tal proposito nonostante l'inserimento della PFE nei programmi di selezione, permane un acceso dibattito riguardo il metodo ottimale per la selezione del carattere in questione. Per questo motivo si sostiene che esista una selezione diretta e indiretta, a seconda del parametro che viene preso in considerazione.

Infatti la selezione diretta, tiene conto dell'assunzione dell'RFI o REI (*residual energy intake*). Mentre, la selezione indiretta avviene includendo tratti che influenzano la PFE, in particolare la DMI (Kennedy *et al.*, 1993; VandeHaar *et al.*, 2016; Hurley *et al.*, 2017; Houlahan *et al.*, 2021). Inoltre, è stato stilato da Berry e Pryce (2014), anche un elenco di vantaggi e svantaggi nell'utilizzazione dei due differenti parametri.

Di conseguenza questi due fattori sono protagonisti di molti studi come quello di Becker *et al.* (2022), in cui è analizzata, attraverso un'indagine associata alla letteratura, la relazione genetica tra DMI e la suscettibilità ad alcune malattie durante la produzione di latte. Søndergaard *et al.* (2002) hanno stimato una correlazione genetica di -0,35 tra la capacità di assunzione di cibo e la resistenza alle mastiti nei primi 50 giorni di lattazione. Köck *et al.* (2018) hanno rilevato anche una relazione negativa tra il consumo di sostanza secca e le zoppie delle vacche, dimostrando che le vacche con un alto EBV per il DMI avevano una minore incidenza di zoppia rispetto a quelle con un basso EBV per il DMI. Tuttavia, Becker *et al.* (2022) hanno dimostrato che non sempre selezionare per un alto DMI è vantaggioso. Infatti, pare che nelle prime fasi della lattazione la correlazione è negativa, quindi la strategia vincente sarebbe quella di selezionare per un alto DMI solo dopo il picco di lattazione. Quindi una futura selezione per il carattere PFE deve considerare le fasi di lattazione per evitare effetti negativi sulla salute indipendentemente dal fatto che si scelga come parametro di riferimento la DMI o RFI.

Quando si pianifica la selezione genetica per l'efficienza alimentare, è fondamentale anche però considerare attentamente le sfide legate alla raccolta dei dati su DMI e RFI.

A tal proposito lo studio di Bolormaa *et al.* (2023) investiga sulla possibilità di migliorare l'accuratezza degli indici genomici di DMI e RFI utilizzando varianti genetiche

identificate attraverso studi di associazione (GWAS), registrato in vari periodi di lattazione e ordine di parto. Lo studio ha mostrato differenze significative nelle correlazioni genomiche e nelle ereditabilità per DMI tra le vacche primipare e pluripare, nonché all'interno dell'ordine di parto tra diversi periodi di lattazione. L'incorporazione delle varianti genetiche selezionate insieme ai 50k SNP ha aumentato l'accuratezza degli indici genomici per DMI fino al 11%. Inoltre, l'associazione degli indici genomici con le varianti genetiche tramite il GWAS hanno raggiunto stime più precise durante i periodi di lattazione di metà-fine e nelle vacche con numero di parti superiore.

Attualmente ci sono vari metodi per misurare l'assunzione di alimento o determinare il consumo alimentare, con conseguenti diversi livelli di accuratezza della misurazione. Infatti, la *review* di Seymour *et al.* (2019) fornisce una panoramica delle attuali metodologie utilizzate per misurare l'assunzione di mangime nei ruminanti e il contenuto di sostanza secca, sia sul singolo individuo, sia su larga scala.

In un contesto di ricerca, quindi utilizzando piccoli gruppi di animali, la DMI è misurabile valutando visivamente la quantità di mangime residuo e così successivamente formulare le razioni in base alle necessità (Bolsen e Pollard, 2004). Tuttavia, il metodo tradizionale di pesatura dell'alimento residuo, non è economicamente fattibile per un'analisi su una popolazione più ampia. Inoltre, questo metodo richiede molto lavoro manuale ed è più adatto a situazioni in cui gli animali sono tenuti separatamente. In situazioni in cui gli animali sono in gruppi e condividono una mangiatoia comune, è più difficile determinare l'assunzione individuale.

Uno dei metodi più utilizzati per la predizione del DMI è l'uso della RFI. Ma è un metodo piuttosto limitato a causa dell'errore residuo che può oscillare tra il 41% e il 47% (Fischer *et al.*, 2018). Un altro limite dell'utilizzo della RFI, è il non tener conto della differenza della composizione delle razioni alimentari, rendendo difficile il confronto tra i vari gruppi. Fischer *et al.* (2018) offre una possibile soluzione, cioè il calcolo dell'energia netta della razione, ottenendo così l'assunzione residua di energia netta, permettendo il giusto confronto tra gruppi che si differenziano per varie caratteristiche.

Sicuramente invece, un metodo efficace per la misurazione della DMI è l'utilizzo dei dati spettrali tramite tecnologia nel medio infrarosso (MIR). Già nel 2011, i dati spettrali del latte sono stati utilizzati per stimare il bilancio energetico nei bovini da latte (McParland

et al., 2011, 2012). Successivamente, la stessa metodologia è stata applicata alla predizione di RFI (McParland *et al.*, 2014). Nel tentativo di eliminare la necessità della registrazione del DMI individuale, Shetty *et al.* (2017), tramite la *partial least squares regression* (tecnica normalmente impiegata per lo sviluppo di modelli di predizione con dati spettrali) hanno sviluppato modelli per la predizione del DMI sulla base dei dati spettrali MIR. Questo approccio permetterebbe la quantificazione del DMI a livello di popolazione senza costi aggiuntivi, poiché le informazioni spettrali sono già routinariamente raccolte nell'ambito del controllo funzionale.

Sono attualmente in fase di sviluppo anche metodi per determinare il DMI che fanno uso di tecnologie avanzate di elaborazione delle immagini, come il metodo di visione artificiale di Shelley *et al.* (2016) e il metodo fotogrammetrico sviluppato da Bloch *et al.* (2019). Recentemente, *Viking Genetics* (Randers, Danimarca) ha presentato un sistema di telecamere 3D in grado sia di identificare le singole vacche in una mandria, sia di misurarne l'ingestione alimentare (Lassen *et al.*, 2018; Thomasen *et al.*, 2018).

Invece, i metodi per la determinazione del DMI in situazioni di gruppo includono l'uso di sistemi come il *Calan Broadbent Feeding System*, il *Controlling and Recording Feed Intake system*, il *GrowSafe System* e il *roughage intake control system*, che utilizzano tag di identificazione radio frequenza per registrare l'accesso alla mangiatoia (e quindi in grado di riconoscere il singolo animale) e la differenza di peso del cibo consumato. Anche se richiedono investimenti in infrastrutture, questi sistemi riducono i costi legati al lavoro manuale e consentono la misurazione dell'assunzione individuale su un gran numero di animali.

Per quanto riguarda gli studi condotti in pascoli da Steyn *et al.* (2018), l'assunzione di foraggio è stimata mediante regressione lineare o utilizzando marcatori fecali indigeribili. La maggior parte di questi studi ha utilizzato regressioni lineari per stimare la quantità media di foraggio consumato da ciascun animale, basandosi su misure come l'altezza delle colture e del contenuto di materia secca. Tuttavia, questa tecnica ha una bassa precisione per le assunzioni individuali ed è più adatta per stimare le assunzioni medie di un gruppo di animali.

Infine lo studio di Negussie *et al.* (2019), pone l'attenzione su un altro quesito, ovvero, come ottenere una stima più accurata della DMI giornaliera analizzando diversi scenari

di registrazione. Sono stati simulati cinque scenari di registrazione del DMI giornaliero in azienda: una volta alla settimana (SCN1), una volta al mese (SCN2), ogni 2 mesi (SCN3), ogni 3 mesi (SCN4) e ogni 4 mesi (SCN5). Il confronto tra i diversi scenari di registrazione del DMI in azienda ha indicato che l'adozione di uno scenario di registrazione meno frequente (SCN3) forniva un livello di accuratezza simile a SCN1, quando venivano registrati i dati di 17 figlie per toro rispetto alle 46 necessarie per SCN1. Una tale strategia richiede meno problematiche logistiche ed ha un costo più basso, dato che permette di raccogliere meno dati per animale. L'accuratezza delle predizioni genomiche associate ai 5 scenari di registrazione ha indicato che l'utilizzo di una popolazione di riferimento relativamente più grande e l'adozione di uno scenario di campionamento DMI meno frequente (ad esempio, SCN3) è promettente. Infatti, considerando popolazione di riferimento di un gran numero di capi, l'accuratezza delle predizioni genomiche di SCN3 è stata solo 5-7 punti percentuali più bassa rispetto a quella della strategia di registrazione DMI più costosa (SCN1).

7. Conclusioni

Questo studio ha affrontato l'importante questione dell'efficienza alimentare ed ha analizzato come l'utilizzo degli indici genomici del carattere PFE sono informative nell'individuare bovine più efficienti. In particolar modo ha quantificato la differenza fenotipica di ingestione alimentare di bovine che si caratterizzano con un merito genetico per il carattere PFE diverso. Sono stati infatti confrontati, i valori genetici predetti per l'efficienza alimentare e i dati reali relativi al consumo di alimento, raccolti direttamente sul campo. Nonostante i risultati non abbiano raggiunto significatività statistica, è emersa una tendenza interessante: le bovine con un elevato merito genetico per l'efficienza alimentare sembrano consumare una quantità inferiore di sostanza secca rispetto a quelle con un merito genetico inferiore, indipendentemente dalla produzione di latte. Questi risultati suggeriscono che la selezione per l'efficienza alimentare, misurata attraverso gli indici considerati, può contribuire a identificare bovine che sono in grado di mantenere una buona produttività lattea mentre consumano meno cibo. Questo ha rilevanti implicazioni per l'industria lattiero-casearia, poiché può contribuire a ridurre i costi di alimentazione, migliorando allo stesso tempo la sostenibilità economica e ambientale delle aziende agro-zootecniche. È essenziale anche sottolineare che questo studio ha utilizzato una dimensione limitata del campione, il che potrebbe aver limitato la capacità di rilevare differenze statisticamente significative. Tuttavia, la tendenza osservata suggerisce che ulteriori ricerche con campioni più ampi porterebbero a confermare l'importanza dell'inserimento dell'indice dell'efficienza alimentare nella selezione del bestiame da latte.

Quindi si evince che è fondamentale continuare a monitorare e aggiornare questi indici per essere sempre al passo dell'esigenze in continua evoluzione dell'industria lattiero-casearia.

In definitiva, questo studio getta le basi per ulteriori ricerche e dimostra il potenziale dell'approccio genomico nella selezione degli animali da latte, promuovendo la creazione di mandrie più efficienti e sostenibili per il futuro.

Bibliografia

- Albright, J.L., 1993. Feeding Behavior of Dairy Cattle^{1,2,3}. *Journal of Dairy Science*, 76:485–498.
- 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. *Journal of Dairy Science*, 98:1750-1758.
- Associazione Nazionale Allevatori della Razza Frisona, Bruna e Jersey Italiana. <https://www.anafi.it/> [consultato il 14/09/2023].
- 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. *The British Journal of Nutrition*, 15:443–451.
- Basarab, J.A., K.A. Beauchemin, V.S. Baron, K.H. Ominski, L.L. Guan, S.P. Miller, and J.J. Crowley. 2013. Reducing GHG emissions through genetic improvement for feed efficiency: effects on economically important traits and enteric methane production. *Animal*, 7:303-315.
- Beauchemin, K.A. 2018. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101:4762–4784.
- Becker, V.A.E., E. Stamer, H. Spiekens, and G. Thaller. 2022. Genetic parameters for dry matter intake, energy balance, residual energy intake, and liability to diseases in German Holstein and Fleckvieh dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 105:9738-9750.
- Benedet, A., C.L. Manuelian, A. Zidi, M. Penasa, and M. De Marchi. 2019. Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal*, 13:1676-1689.

- Berry, D.P., and J.E. Pryce. 2014. Feed efficiency in growing and mature animals. In Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 1-6.
- Bloch, V., H. Levit, and I. Halachmi. 2019. Assessing the potential of photogrammetry to monitor feed intake of dairy cows." *Journal of dairy research*, 86:34-39.
- Bolormaa, S., M. Haile-Mariam, L.C. Marett, F. Miglior, C.F. Baes, F.S. Schenkel, E.E. Connor, C.I. Manzanilla-Pech, E. Wall, M.P. Coffey, and M.E. Goddar. 2023. Use of dry-matter intake recorded at multiple time periods during lactation increases the accuracy of genomic prediction for dry-matter intake and residual feed intake in dairy cattle. *Animal Production Science*, 63:1113-1125
- Bolsen, K. K., G.V. Pollard. 2004. Feed bunk management to maximize feed intake. *Advances in dairy technology: proceedings of the Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, AB, Canada. WCDS, Edmonton, 227–238.*
- Bonfante, E., A. Palmonari, L. Mammi, G. Canestrari, M. Fustini, and A. Formigoni. 2016. Effects of a completely pelleted diet on growth performance in Holstein heifers. *Journal of dairy science*, 99:9724-9731.
- Buonaiuto, G., D. Cavallini, M.E. Mammi, F. Ghiaccio, A. Palmonari, A. Formigoni, and G. Visentin. 2021. The accuracy of NIRS in predicting chemical composition and fibre digestibility of hay-based total mixed rations. *Italian Journal of Animal Science*, 20:1730-1739.
- Cavallini, D., L.M.E. Mammi, G. Biagi, I. Fusaro, M. Giammarco, A. Formigoni, and A. Palmonari. 2021. Effects of 00-rapeseed meal inclusion in Parmigiano Reggiano hay-based ration on dairy cows' production, reticular pH and fibre digestibility. *Italian Journal of Animal Science*, 20:295-303.
- Cavallini, D., L.M.E. Mammi, G. Buonaiuto, A. Palmonari, E. Valle, and A. Formigoni. 2021. Immune-metabolic-inflammatory markers in Holstein cows exposed to a nutritional and environmental stressing challenge. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 105:42-55.

- Cavallini, D., L.M.E. Mammi, A. Palmonari, R. García-González, J.D. Chapman, D.J. McLean and A. Formigoni. 2022. Effect of an immunomodulatory feed additive in mitigating the stress responses in lactating dairy cows to a high concentrate diet challenge. *Animals*, 12:2129.
- Cavallini, D., A. Palmonari, L.M.E. Mammi, F. Ghiaccio, G. Canestrari, and A. Formigoni. 2023. Evaluation of fecal sampling time points to estimate apparent nutrient digestibility in lactating Holstein dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*, 9:1065258.
- Cole, J.B., J.W. Dürr, and E.L. Nicolazzi. 2021. Invited review: The future of selection decisions and breeding programs: What are we breeding for, and who decides?. *Journal of Dairy Science*, 104:5111-5124.
- Cooper, S.D.B., 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. *Journal of Animal Science*, 74:1240-1251.
- 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. *Journal of dairy science*, 100:3825-3838.
- Crowe, M.A., M. Hostens, and G. Opsomer. 2018. Reproductive management in dairy cows-the future. *Irish veterinary journal*, 71:1-13.
- Dado, R.G., and M.S. Allen. 1994. Variation in and relationships among feeding, chewing, and drinking variables for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77:132-144.
- DeVries, T.J., M.A.G. Von Keyserlingk, D.M. Weary, and K.A. Beauchemin. 2003. Measuring the feeding behavior of lactating dairy cows in early to peak lactation. *Journal of Dairy Science*, 86:3354-3361.

- DeVries, T.J., and M.A.G. Von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. *Journal of dairy science*, 88:625-631.
- 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. *Journal of dairy science*, 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. *Journal of Dairy Science*, 91:3958-3967.
- Dohme, F., T.J. DeVries, and K.A. Beauchemin. 2008. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Ruminal pH. *Journal of dairy science*, 91:3554-3567.
- El Jabri, M., P. Trossat, V. Wolf, E. Beuvier, O. Rolet-Répécaud, S. Gavoye, Y. Gaüzère, O. Belysheva, N. Gaudillière, E. Notz, and P. Grosperin. 2020. Mid-infrared spectrometry prediction of the cheese-making properties of raw Montbéliarde milks from herds and cheese dairy vats used for the production of Protected Designation of Origin and Protected Geographical Indication cheeses in Franche-Comté. *Journal of dairy science*, 103:5992-6002.
- Facchini, E., P. Bijma, G. Pagnacco, R. Rizzi, and E.W. Brascamp. 2019. Hygienic behaviour in honeybees: a comparison of two recording methods and estimation of genetic parameters. *Apidologie*, 50:163-172.
- Farstad, W. 2018. Ethics in animal breeding. *Reproduction in domestic animals*, 53:4-13.
- Ferris, C. P., F.J. Gordon, D.C. Patterson, M.G. Porter, and T. Yan. 1999. The effect of genetic merit and concentrate proportion in the diet on nutrient utilization by lactating dairy cows. *The Journal of Agricultural Science*, 132:483-490.

- Finocchiaro, R., J.B.C.H.M. van Kaam, M. Marusi, and M. Cassandro. 2017. Body weight prediction in Italian Holstein cows. *ICAR Technical Series*, 22:95-98.
- Finocchiaro, R., F. Omodei Zorini, J. van Kaam, G. Invernizzi, M. Marusi, T. Bobbo, and G. Savoini. 2020. Predicted feed efficiency index applied to Italian Holstein Friesian cattle population. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 23:329-333.
- Fisher, R.A. 1918. XV. — The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52:399-433.
- Fischer, A., N.C. Friggens, D.P. Berry, and P. Faverdin. 2018. Isolating the cow-specific part of residual energy intake in lactating dairy cows using random regressions. *Animal*, 12:1396-1404.
- Fischer, A., R. Delagarde, and P. Faverdin. 2018. Identification of biological traits associated with differences in residual energy intake among lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 101:4193-4211.
- Fraser, A. F., and H. Herchen. 1979. The behaviour of liberated livestock. *Applied Animal Ethology*, 5:95–101.
- Fujihara, T., 1981. Eating and rumination behaviour in sheep given silage made from the fibrous residue of ladino clover. *The Journal of Agricultural Science*, 97:485–488.
- 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. *Journal of Dairy Science*, 100: 4475-4483.

- 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 high-grain diet. *Journal of dairy science*, 97:3006-3016.
- Georges, M. 2001. Recent progress in livestock genomics and potential impact on breeding programs. *Theriogenology*, 55:15–21.
- Gordon, J.G., and I.K. McAllister. 1970. The circadian rhythm of rumination. *The Journal of Agricultural Science*, 74:291-297.
- Grelet, C., E. Froidmont, L. Foldager, M. Salavati, M. Hostens, C.P. Ferris, K.L. Ingvarlsen, M.A. Crowe, M.T. Sorensen, J.F. Pierna, and A. Vanlierde. 2020. Potential of milk mid-infrared spectra to predict nitrogen use efficiency of individual dairy cows in early lactation. *Journal of dairy science*, 103:4435-4445.
- Hedrick, P.W. 2015. Heterozygote advantage: the effect of artificial selection in livestock and pets. *Journal of Heredity*, 106:141-154.
- Herd, R.M., P.F. Arthur, R.S. Hegarty, and J.A. Archer. 2002. Potential to reduce greenhouse gas emissions from beef production by selection for reduced residual feed intake. In *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, session 10:0-4. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).
- Hosseinkhani, A., T.J. DeVries, K.L. Proudfoot, R. Valizadeh, D.M. Veira, and M.A.G. Von Keyserlingk. 2008. The effects of feed bunk competition on the feed sorting behavior of close-up dry cows. *Journal of dairy science*, 91:1115-1121.
- Houlahan, K., F.S. Schenkel, D. Hailemariam, J. Lassen, M. Kargo, J.B. Cole, E.E. Connor, S. Wegmann, O. Junior, F. Miglior, and A. Fleming. 2021. Effects of incorporating dry matter intake and residual feed intake into a selection index for dairy cattle using deterministic modeling. *Animals*, 11:1157.

- Humer, E., A. Khol-Parisini, L. Gruber, J. Gasteiner, S.M. Abdel-Raheem, and Q. Zebeli. 2015. Long-term reticuloruminal pH dynamics and markers of liver health in early-lactating cows of various parities fed diets differing in grain processing. *Journal of dairy science*, 98:6433-6448.
- Hurley, A.M., N. López-Villalobos, S. McParland, E. Lewis, E. Kennedy, M. O'Donovan, J.L. Burke, and D.P. Berry. 2017. Genetics of alternative definitions of feed efficiency in grazing lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100:5501-5514.
- Kennedy, B.W., J.H. Van der Werf, and T.H. Meuwissen. 1993. Genetic and statistical properties of residual feed intake. *Journal of animal science*, 71:3239-3250.
- 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. *Journal of dairy science*, 85:3304-3313.
- 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. *Journal of Dairy Science*, 99:1471-1482.
- Kleen, J.L., G.A. Hooijer, J. Rehage, and J.P.T.M. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 50:406-414.
- 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. *Journal of dairy science*, 97:7175-7184.
- Köck, A., M. Ledinek, L. Gruber, F. Steininger, B. Fuerst-Waltl, and C. Egger-Danner. 2018. Genetic analysis of efficiency traits in Austrian dairy cattle and their relationships with body condition score and lameness. *Journal of dairy science*, 101:445-455.
- Kononoff, P.J., A.J. Heinrichs, and H.A. Lehman. 2003. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:3343-3353.

- 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. *Livestock Science*, 193:118-122.
- Lassen, J., J.R. Thomasen, R.H. Hansen, G.G.B. Nielsen, E. Olsen, P.R.B. Stentebjerg, N.W Hansen, and S. Borchersen. 2018. Individual measure of feed intake on in-house commercial dairy cattle using 3D camera system. In *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, v. Technologies-Novel Phenotypes*. Auckland, NZ: Massey University.
- Leonardi, C., and L.E. Armentano. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:557-564.
- López-Gatius, F. 2012. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. A review. *Theriogenology*, 77:1029-1041.
- Lopez-Villalobos, N., P.G. Wiles, and D.J. Garrick. 2020. Sire selection and genetic improvement of dairy cattle assuming pure market competition. *Journal of dairy science*, 103:4532-4544.
- 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. *Journal of Dairy Science*, 100:1045-1054.
- Mammi, L.M.E., M. Fustini, L. Grazia, and A. Formigoni. 2015. Influence of monensin continuous-release intraruminal device on milk and whey starter quality used for Parmigiano Reggiano cheese production. In *Italian Journal of Animal Science _ ASPA 21st Congress_ Book of Abstract*, 14:169-69.
- Mammi, L.M.E., D. Cavallini, A. Palmonari, A. Concolino, F. Ghiaccio, G. Buonaiuto, G. Visentin, and A. Formigoni. 2021. 504 Late-Breaking: Automatic Monitoring Systems to Detect Behavioral and Productive Variations during Heat Stress in Dairy Cows. *Journal of Animal Science*, 99:180-181.

- Mammi, L.M.E., G. Buonaiuto, F. Ghiaccio, D. Cavallini, A. Palmonari, I. Fusaro, V. Massa, A. Giorgino, and A. Formigoni. 2022. Combined inclusion of former food-stuff and distiller grains in dairy cows ration: effect on milk production, rumen environment, and fiber digestibility. *Animals*, 12:3519.
- 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. *Journal of dairy science*, 93:4791-4803.
- Maulfair, D.D., K.K. McIntyre, and A.J. Heinrichs. 2013. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. *Journal of dairy science* 96:6610-6620.
- McParland, S., G. Banos, E. Wall, M.P. Coffey, H. Soyeurt, R.F. Veerkamp, and D.P. Berry. 2011. The use of mid-infrared spectrometry to predict body energy status of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94:3651-3661.
- McParland, S., G. Banos, B. McCarthy, E. Lewis, M.P. Coffey, B. O'neill, M. O'donovan, E. Wall, and D.P. Berry. 2012. Validation of mid-infrared spectrometry in milk for predicting body energy status in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 95:7225-7235.
- McParland, S., E. Lewis, E. Kennedy, S.G. Moore, B. McCarthy, M. O'Donovan, S.T. Butler, J.E. Pryce, and D.P. Berry. 2014. Mid-infrared spectrometry of milk as a predictor of energy intake and efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97:5863-5871.
- Medeiros, I., A. Fernandez-Novo, S. Astiz, and J. Simões. 2022. Historical evolution of cattle management and herd health of dairy farms in OECD countries. *Veterinary sciences*, 9:125.
- Meuwissen, T.H., B.J. Hayes, and M. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157:1819-1829.

- Miglior, F., B.L. Muir, and B.J. Van Doormaal. 2005. Selection indices in Holstein cattle of various countries. *Journal of dairy science*, 88:1255-1263.
- Miglior, F., A. Fleming, F. Malchiodi, L.F. Brito, P. Martin, and C.F. Baes. 2017. A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 100:10251-10271.
- Miller-Cushon, E.K., and T.J. DeVries. 2017. Associations between feed push-up frequency, feeding and lying behavior, and milk yield and composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100:2213-2218.
- Monti, F., G. Visentin, M. Marusi, R. Finocchiaro, J.B.C.H.M. van Kaam, G. Civati, and R. Davoli. 2018. Factors associated with feed efficiency traits in Italian Jersey cows. In: *Book of Abstract of the 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*, 439-439.
- 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*. *Applied Animal Behaviour Science*, 92:3-14.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*. The National Academies Press.
- Nebel, R.L., and S.M. Jobst. 1998. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: a review. *Journal of dairy science*, 81:1169-1174.
- Negussie, E., T. Mehtiö, P. Mäntysaari, P. Løvendahl, E. A. Mäntysaari, and M.H. Lidauer. 2019. Reliability of breeding values for feed intake and feed efficiency traits in dairy cattle: When dry matter intake recordings are sparse under different scenarios. *Journal of dairy science*, 102:7248-7262.
- Nicolazzi, E.L., S. Biffani, and G. Jansen. 2013. Short communication: Imputing genotypes using PedImpute fast algorithm combining pedigree and population information. *Journal of Dairy Science*, 96:2649-2653.
- Pagnacco, G., 1997. *Genetica applicata alle produzioni animali*. CittàStudi.

- Pagnacco, G., 2016. *Genetica animale Applicazioni zootecniche e veterinarie*. Seconda edizione. Zanichelli.
- Pearce, G.R., and R.J. Moir. 1964. Ruminantion in sheep. I. The influence of ruminantion and grinding upon the passage and digestion of food. *Australian Journal of Agricultural Research*, 15:635-644.
- 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. *Journal of dairy science*, 92:3116-3123.
- Rovelli, G., S. Ceccobelli, F. Perini, E. Demir, S. Mastrangelo, G. Conte, F. Abeni, D. Marletta, R. Ciampolini, M. Cassandro and U. Bernabucci. 2020. The genetics of phenotypic plasticity in livestock in the era of climate change: a review. *Italian Journal of Animal Science*, 19:997-1014.
- Rutter, S.M., R.J. Orr, N.H. Yarrow, and R.A. Champion. 2004. Dietary preference of dairy cows grazing ryegrass and white clover. *Journal of dairy science*, 87:1317-1324.
- 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, ruminantion, and rumen pH in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101:10911-10921.
- Sandrucci, A. and Trevisi, E., 2022. *Produzioni animali*. EDISES.
- Schirmann, K., N. Chapinal, D.M. Weary, W. Heuwieser, and M.A. Von Keyserlingk. 2012. Ruminantion and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 95:3212-3217.
- Seymour, D.J., A. Cánovas, C.F. Baes, T.C.S. Chud, V.R. Osborne, J.P. Cant, L.F. Brito, B. Gredler-Grandl, R. Finocchiaro, R.F. Veerkamp, and Y. De Haas. 2019. Invited review: Determination of large-scale individual dry matter intake phenotypes in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102:7655-7663.

- Shelley, A.N., D.L. Lau, A. E. Stone, and J.M. Bewley. 2016. Measuring feed volume and weight by machine vision. *Journal of dairy science*, 99:386-391.
- Shetty, N., P. Løvendahl, M.S. Lund, and A.J. Buitenhuis. 2017. Prediction and validation of residual feed intake and dry matter intake in Danish lactating dairy cows using mid-infrared spectroscopy of milk. *Journal of Dairy Science*, 100:253-264.c
- Sjaunja, L.O., L. Baevre, L. Junkkarinen, J. Pedersen, and J. Setälä. 1990. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Pages 156–157 in Proc. 27th Biennial Session of Intl. Comm. For Anim. Recording (ICAR), Paris, France, July 2–6, 1990. Pudoc.
- Søndergaard, E., M.K. Sørensen, I.L. Mao, and J. Jensen. 2002. Genetic parameters of production, feed intake, body weight, body composition, and udder health in lactating dairy cows. *Livestock Production Science*, 77:23-34.
- Steyn, L., R. Meeske, and C.W. Cruywagen. 2018. The effect of replacing maize with dried apple pomace in the concentrate on performance of Jersey cows grazing kikuyu pasture. *Animal Feed Science and Technology*, 239:85-93.
- Tempelman, R.J., and Y. Lu. 2020. Symposium review: Genetic relationships between different measures of feed efficiency and the implications for dairy cattle selection indexes. *Journal of dairy science*, 103:5327-5345.
- Thomassen, J.R., J. Lassen, G.G.B. Nielsen, C. Borggard, P. R. B. Stentebjerg, R. H. Hansen, N. W. Hansen, and S.Borchersen. 2018. Individual cow identification in a commercial herd using 3D camera technology. In *Proceedings of the 11th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 7-11.
- Tiplady, K.M., T.J. Lopdell, M.D. Littlejohn, and D.J. Garrick. 2020. The evolving role of Fourier-transform mid-infrared spectroscopy in genetic improvement of dairy cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11:1-13.

- VandeHaar, M.J., L.E. Armentano, K. Weigel, D.M. Spurlock, R.J. Tempelman, and R. Veerkamp. 2016. Harnessing the genetics of the modern dairy cow to continue improvements in feed efficiency. *Journal of dairy science*, 99:4941-4954.
- 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. *Journal of dairy science*, 100:9551-9568.
- Whitt, C.E., L.W. Tauer, and H. Huson. 2019. Bull efficiency using dairy genetic traits. *Plos one*, 14:e0223436.
- Williams, M., R.D. Sleator, C.P. Murphy, J. McCarthy, and D.P. Berry. 2022. Re-assessing the importance of linear type traits in predicting genetic merit for survival in an aging Holstein-Friesian dairy cow population. *Journal of Dairy Science*, 105: 7550-7563.
- 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. *Journal of dairy science*, 98:4685-4697.
- Zachut, M., M. Šperanda, A.M. de Almeida, G. Gabai, A. Mobasher, and L. E. Hernández-Castellano. 2020. Biomarkers of fitness and welfare in dairy cattle: healthy productivity. *Journal of Dairy Research*, 87:4-13.

Ringraziamenti

Ringrazio il Prof. Giulio Visentin, a cui desidero esprimere la mia più sincera gratitudine per il prezioso supporto e la guida che mi ha offerto durante la stesura della mia tesi. Soprattutto, lo ringrazio per la sua dedizione e pazienza fondamentali per la mia realizzazione di questo lavoro.

Ringrazio inoltre, il correlatore, Dott. Giovanni Buonaiuto per i consigli e l'aiuto che mi ha fornito durante il processo di stesura.