



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE AGRARIE E AMBIENTALI**

CICLO XXVIII

COORDINATORE Prof. Mancuso Stefano

**Caratterizzazione nutrizionale delle erbe dei pascoli
naturali e impiego di metodi di valutazione innovativi**

Settore Scientifico Disciplinare AGR/18

Dottorando

Dott.ssa Parrini Silvia

Tutore

Prof.ssa Acciaioli Anna

Coordinatore

Prof. Mancuso Stefano

Anni 2012/2015

La mia unica certezza è il dubbio
(Cartesio)

RIASSUNTO

Lo studio ha approfondito le conoscenze relative alle caratteristiche qualitative e quantitative delle erbe dei pascoli naturali della Toscana utilizzando metodologie innovative a fianco di quelle tradizionali. Per raggiungere tale obiettivo sono state considerate diverse fasi: 1) la caratterizzazione delle erbe dei pascoli naturali della Toscana; 2) l'utilizzo della colorimetria per la stima delle caratteristiche chimico-nutrizionali di erbe fresche; 3) l'applicazione del NIRS per la valutazione delle caratteristiche chimico-nutrizionali di erbe fresche ed essiccate e di pascoli polifiti.

I campioni di erba sono stati prelevati in diverse aree della Toscana differenti per: altitudine, stadio vegetativo e composizione floristica. Sui campioni di erba è stata determinata la composizione chimica applicando le metodiche ufficiali e sono state calcolate le Unità Foraggiere Latte e Carne utilizzando le equazioni proposte da INRA. Inoltre, i pascoli sono stati caratterizzati anche in termini di composizione floristica e produttività ad ettaro, sia per la quantità di fitomassa presente sia per il suo valore nutritivo. Le erbe della Toscana hanno evidenziato alte potenzialità nutrizionali (sia per il contenuto energetico che per quello proteico), nonostante un'ampia variabilità dei parametri qualitativi e quantitativi principalmente come effetto dello stadio fenologico delle specie prevalenti. I risultati sono stati esposti in una tabella informativa contenenti i riferimenti delle diverse classificazioni dell'erba al fine di proporre una chiave di lettura dettagliata per il trasferimento delle informazioni ad altre situazioni territoriali.

Lo studio relativo alla stima delle caratteristiche chimico nutrizionali delle erbe dei pascoli tramite il colore ha previsto letture ripetute delle coordinate colorimetriche sui campioni di erba allo stato fresco per proporre un uso in campo rapido e poco costoso. Le coordinate colorimetriche ed in particolare l'indice del rosso corrispondono a quelle effettivamente visibili e sono fortemente associate all'evoluzione delle fasi fenologiche dell'erba dei pascoli; i modesti coefficienti di determinazione ottenuti tuttavia si traducono in una scarsa capacità predittiva che, allo stato attuale, non ne consente un uso applicativo.

Infine, la composizione chimica e nutrizionale delle erbe di pascoli naturali è stata stimata attraverso la spettroscopia nel vicino infrarosso a partire da letture spettrali differenti per modalità di conservazione dei campioni. Nonostante l'ampia variabilità del *data set* considerato, l'applicazione del FT-NIRS si è dimostrata in grado di stimare la composizione chimica dei pascoli polifiti, con accuratezza e precisione, mentre minori potenzialità sono associate alla stima del valore nutrizionale. L'utilizzo del FT-NIRS su campioni di erba fresca per la lettura spettrale, sembra ancora da perfezionare; tuttavia, i risultati ottenuti nella fase di calibrazione, lasciano spazio per un ulteriore approfondimento sperimentale che dovrà considerare un numero di campioni più elevato.

ABSTRACT

The present research was aimed to deepen the knowledge of qualitative and quantitative characteristics of natural pastures in Tuscany by using both innovative and traditional methodologies. The aim was reached through different phases: 1) characterization of natural pastures of Tuscany; 2) the use of colour coordinates for estimating nutritive and chemical properties of fresh grasses; 3) application of NIRS for evaluating the nutritional and chemical characteristics of fresh and dried grasses as well as mixed meadows.

Grass samples were taken in several areas of Tuscany with different elevation, vegetative stage and floristic composition. Chemical composition of grass samples was determined by applying official methods Milk and Meat Forage Units were calculated using the equations proposed by INRA. In addition, the pastures were characterized in terms of floristic composition and productivity, both for grass mass and for nutritional value. Tuscany meadows have shown high nutritional potential (both for energy and protein content), despite the broad variability of qualitative and quantitative parameters primarily due to the phenological stage of the prevailing species. The results were displayed as tables containing the references of different classifications of grass in order to propose a detailed interpretation for transferring information to other situations.

The study on the estimation of nutritive and chemical properties of the pastures through the colour coordinates has provided repeated readings of the colorimetric coordinates on the samples of fresh grass to propose a rapid and inexpensive field use. Colorimetric coordinates and specifically the red index correspond to those actually visible and are strongly associated with the evolution of the phenological stages of grass pastures; however the modest coefficients of determination obtained resulted in a poor predictive capability that, at present, does not allow practical applications. Finally, the chemical and nutritional composition of natural pastures was estimated through the near infrared spectroscopy starting from spectral readings differentiated in terms of samples' preservation. Despite the wide variability of the data set, the application of FT-NIRS has proven to be able to estimate the chemical composition of mixed meadows with good accuracy and precision, while lower potentials are associated with the estimate of nutritional value. The use of the FT-NIRS on samples of fresh grass seems still to be perfected; however, the results obtained during the calibration phase, leave room for further study that will need to consider a higher number of samples.

INDICE

Parte introduttiva

1. I PASCOLI

1.1 Situazione attuale e consistenze dei pascoli.....	3
1.2 Significato, origine e ruoli dei sistemi pascolivi.....	5
1.3 Classificazione dei pascoli.....	9
1.4 Produttività, qualità dei pascoli e fattori influenti.....	11
1.5 Sistemi di valutazione dei pascoli.....	16
1.6 La gestione zootecnica del pascolo e il carico animale.....	19
1.7 Il comportamento alimentare degli animali al pascolo.....	21

2.LE ERBE NELL'ALIMENTAZIONE DEGLI ANIMALI

2.1 Cenni di nutrizione: ruminanti e monogastrici.....	24
2.2 L'ingestione e l'appetibilità.....	29
2.3 Le esigenze nutritive degli animali	34
2.4 Il valore nutritivo degli alimenti e delle erbe.....	36
2.4.1 Utilizzazione dell'energia alimentare.....	38
2.4.2 La digeribilità degli alimenti e delle erbe.....	40
2.5 Sistemi di espressione del valore energetico e proteico.....	43
2.6 Composizione chimica degli alimenti.....	48
2.6.1 Caratteristiche chimiche dell'erba.....	52
2.7 Effetto del pascolo di erba sulle produzioni degli animali.....	55

3.METODOLOGIE INNOVATIVE PER LA VALUTAZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI

3.1 Introduzione e storia della spettroscopia nel vicino infrarosso.....	59
3.2 Principi di spettroscopia.....	61
3.3 La regione del vicino infrarosso.....	64
3.4 La spettroscopia nel vicino infrarosso NIRs.....	65
3.5 Metodi di analisi quantitativa mediante NIRs.....	69
3.6 La valutazione dei foraggi mediante NIRs.....	71
3.7 Altri sistemi di valutazione delle caratteristiche nutrizionali dei pascoli.....	74

4. BIBLIOGRAFIA DELLA PARTE INTRODUTTIVA.....	78
--	-----------

Parte sperimentale

5. SCOPO	89
6. MATERIALI E METODI DELLA FASE PRELIMINARE	
6.1 Area d'indagine.....	91
6.2 Metodo descrizione dell'erba.....	92
6.3 Prelievo dei campioni.....	93
7. PROVA 1: CARATTERIZZAZIONE CHIMICO NUTRIZIONALE DELLE ERBE	
7.1 Materiali e metodi.....	97
7.2 Risultati e discussione.....	100
7.3 Conclusioni.....	111
7.4 Bibliografia.....	112
8. PROVA 2: UTILIZZO DELLA COLORIMETRIA PER LA VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DELL'ERBA FRESCA DEI PASCOLI	
8.1 Materiali e metodi.....	117
8.2 Risultati e discussione.....	119
8.3 Conclusioni	122
8.4 Bibliografia.....	123
9. PROVA 3: VALUTAZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE DELLE ERBE DI PASCOLI TRAMITE NIRS	
9.1 Materiali e metodi.....	127
9.2 Risultati e discussione.....	130
9.3 Conclusioni.....	141
9.4 Bibliografia.....	143
10. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE	147

PARTE INTRODUTTIVA

CAPITOLO 1

IPASCOLI

1.1 Situazione attuale e consistenze dei pascoli

La superficie agricola mondiale è costituita per circa due terzi da prati e pascoli (FAO/STAT, 2013). I territori pascolivi sono maggiormente diffusi nei Paesi con grandi estensioni territoriali e scarsa densità di popolazione, ne sono un esempio le aree tropicali e subtropicali in quanto meno colonizzate e più recentemente rispetto alle aree temperate (Pardini, 2006). In Europa, se considerata anche la Federazione Russa, oltre il 40% del totale dei terreni agricoli sono coperti da prati e pascoli permanenti o temporanei (FAO/STAT, 2013). Queste aree rappresentano le risorse alimentari più significative per gli erbivori domestici: i foraggi freschi o conservati forniscono più del 50% di alimenti per il bestiame (Herrero et al., 2013). In Italia, i pascoli interessano la superficie per circa 3500000 ettari (Dati ISTAT, 2011) che corrisponde a circa 3,57% del totale. A livello nazionale l'insieme delle superfici investite a prati permanenti e pascoli sono aumentate tra il 2000 e il 2010 di 54 mila ettari, con una variazione percentuale di +1,6% (ISTAT, 2011). In termini di superficie investita i prati permanenti e i pascoli sono concentrati in tre Regioni quali Sicilia, Piemonte e Sardegna, per un complesso di 1,4 milioni di ettari. Secondo l'ultimo Censimento Generale dell'Agricoltura la superficie Toscana coperta da pascoli è rappresentata da circa 121000 ettari (ISTAT, 2011). In Europa, i pascoli permanenti sono dislocati in aree che per localizzazione topografica, per le condizioni climatiche oppure per l'origine dei terreni sono considerati marginali (Leiber et al., 2014). In Italia, ritroviamo un'ampia gamma di tipologie di pascoli per effetto delle diverse altitudini e condizioni pedo-climatiche presenti; queste aree coincidono spesso con zone montane o collinari difficili da raggiungere: ne sono un esempio i pascoli di crinale delle Alpi e degli Appennini (Cavallero et al., 2002; Pardini, 2006). Questi territori sono, spesso, identificabili come marginali in quanto presentano uno sviluppo economico-sociale non comparabile al contesto che lo circonda. Tale condizione è generata prevalentemente dalle caratteristiche intrinseche del territorio con riferimento: all'origine stessa, alle condizioni climatiche estreme come l'assenza o l'abbondanza di acqua (Leiber et al., 2014), alle condizioni morfologiche (pendii, dislivelli, inaccessibilità, ecc.) che implicano carenze strutturali nelle reti di trasporto e di comunicazione. Queste condizioni sfavoriscono l'insediamento e lo sviluppo di attività produttive e la mobilità delle persone (Acciaioli et al., 2014). Il concetto di marginalità assume, quindi, un ampio significato rispetto al passato, perché esso si estende oltre che ai terreni difficili di collina o di montagna anche a quelli senza eccessive limitazioni di natura pedoclimatica o di produttività come ai terreni ormai dismessi da un'attività agricola precedente, incolti o a territori residui (Acciaioli et al., 2014). Tali aree nella programmazione di sviluppo rurale 2014- 2020 della Toscana sono identificate come aree interne, ovvero, zone distanti dai centri di agglomerazione e di servizio, o con problemi demografici, ma dotate di forti potenzialità attrattive e che presentano una elevata biodiversità climatica e naturale.

I pascoli e i sistemi pastorali in generale, legati al loro carattere di attività estensiva, sono in grado di mantenere attivi i territori marginali (Acciaioli et al., 2014). Tuttavia è solo recentemente che il riconoscimento del ruolo svolto da allevatori e dagli agricoltori nella conservazione degli ambienti agro-silvo-pastorali si è tradotto in politiche di conservazione

concrete finalizzate ad arrestare l'abbandono (Ronchi et al., 2014). L'abbandono delle pratiche agricole e pastorali ha assunto, negli ultimi decenni, un ruolo di primo piano in Europa (Rounsevell et al., 2005; Klein, 2001; Van den Pol-Van Dasselaar et al., 2008), in America (Flinn et al., 2005) ed in Australia (McIntyre et al., 2007), con una tendenza al costante decremento delle superfici pastorali e delle aree coltivate, soprattutto per quanto riguarda le zone economicamente marginali. Per quanto riguarda l'Italia ed in particolare l'arco alpino e l'Appennino Settentrionale, l'abbandono delle pratiche colturali è un processo ormai in atto da più di mezzo secolo (Tappainer et al., 1993). La contrazione delle estensioni prato-pascolive ha riguardato principalmente le zone montane, dove parallelamente all'abbandono delle attività agro-silvo-pastorali si è verificata una forte contrazione del patrimonio zootecnico (Acciaioli et al., 2014). Nello specifico nell'Appennino Settentrionale si è verificata una riduzione delle superficie destinate a foraggiere permanenti che ha interessato le aree in misura del 50-60% (Sabatini et al., 2000). La diminuzione delle pratiche agro-silvo-pastorali da parte dell'uomo e i cambiamenti di uso del suolo influenzano le dinamiche vegetazionali, provocando un'interruzione dell'equilibrio fra cotico erboso/animale pascolante e fra le estensioni prato-pascolive e boschive: processi che si riflettono in variazioni del paesaggio e dell'equilibrio che si è instaurato nel corso dei secoli tra le attività umane e l'ambiente. Dall'antichità e fino al recente passato l'attività pastorale, con maggiore o minore rispetto di regole gestionali corrette, ha profondamente modellato il paesaggio agrario associato a sistemi pastorali caratterizzando estesi territori (Cavallero et al., 2002). D'altra parte anche nella situazione contraria ovvero nelle aree caratterizzate da una maggiore produttività gestite con criteri molto intensivi, si verificano problematiche relative all'inquinamento ed alla perdita di biodiversità (Lemaire et al., 2005).

1.2 Significato, origine e ruoli dei sistemi pascolivi

Il pascolo è una formazione vegetale a copertura erbacea o variamente stratificata con cespugli e alberi a prevalente utilizzazione diretta da parte degli animali (Cavallero et al., 2002, Pardini, 2006). Il pascolamento è la forma originaria d'alimentazione degli erbivori domestici e selvatici e può essere definito come l'incontro fra l'animale e l'erba, ovvero fra due entità biologiche ciascuna con caratteristiche ed esigenze proprie (Rivoira, 1989).

Le differenze terminologiche fra sistemi pascolivi (dall'inglese *rangeland* e spagnolo *pastizal*) e pascoli non sono nette, tuttavia queste espressioni non sono sinonimi (Pardini et al., 2000); tale distinzione assume rilievo per piani di sviluppo e per progetti europei ed extra-Europei. Territorio pascolivo indica infatti una superficie vasta coperta da vegetazione naturale, mista di specie erbacee, arboree e arbustive, utilizzate esclusivamente mediante il pascolamento degli animali (Heqady et al., 1982; Vallentine, 1990). Vi è esclusa la possibilità di gestione intensiva e la superficie non dovrebbe essere inferiore alle centinaia di ettari. Pascolo differisce dal precedente per la possibilità, non necessaria, di una maggiore intensità di gestione non adatte a vastissimi territori (ad esempio la recinzione) ed, inoltre presenta una minore estensione (Pardini et al., 2006). Tuttavia, ogni definizione formulata comprende, in modo più o meno esplicito, le seguenti indicazioni: i pascoli sono una fitocenosi (un insieme di vegetali) la cui fitomassa viene utilizzata in parte o totalmente da animali erbivori (Cavallero et al., 2002) che la prelevano direttamente per nutrirsi. In funzione della specie e dalla categoria degli animali che attuano il pascolamento questo, modifica la composizione floristica e la struttura fisica di vegetazione e suolo (Acciaioli et al., 2010).

La vegetazione dei pascoli si manifesta sotto forma di cotico erboso continuo nel tempo ed è un'entità dinamica dotata di piante in equilibrio fra loro e con il substrato minerale. Il funzionamento si basa sull'utilizzazione dell'energia solare, dell'acqua e degli elementi nutritivi disposti da neve e pioggia, da microrganismi e piante presenti nel cotico, dall'uomo sotto forma di concimazioni e irrigazioni e dagli animali come deiezioni (Cavallero et al., 2002).

La formazione del cotico erboso avviene per successione definita da McCormick (1968) come il succedersi temporale di diverse fitocenosi in un determinato sito; secondo alcuni Autori (Laska, 2001; Tappeiner et al., 1993), l'instaurarsi di una successione è determinata dalla cessazione di azioni di disturbo. Le successioni vengono distinte in primarie, detta anche colonizzazione in riferimento ad un terreno nudo se la prima comunità che si stabilisce si insedia su un substrato sterile (ad esempio spiagge, morene, acque), e in secondarie, detta anche ricolonizzazione in riferimento al ripristino di cotico preesistente ovvero se la colonizzazione da parte delle specie avviene dopo un evento di disturbo su siti già vegetati in precedenza (Smith et al., 2009).

La successione primaria è tipica di aree estreme come elevate altitudini, ambienti aridi, suoli anomali; generalmente è un processo che impiega tempi lunghi attraverso una successione di specie sempre più esigenti. Generalmente nelle aree agro-pastorali si tratta di terreni seminativi abbandonati in cui si assiste alla comparsa di specie favorite dall'azione antropiche e successivamente a quella di specie antierosive di cui ne sono un esempio i *Brachipodi*.

La successione secondaria avviene grazie alle piante sopravvissute nel cotico distrutto da cause naturali (incendi, alluvioni) o antropiche (frane e movimenti a terra). Le successioni sono favorite da mezzi di diffusione delle specie ovvero semi e organi vegetativi.

È necessario precisare che, in Italia, la maggior parte delle superfici a pascolo, localizzate sia sulle Alpi sia sugli Appennini *“sono da ritenersi di formazione secondaria, cioè provenienti da superfici un tempo coperte da manto boschivo e da cotiche pabulari insediate dopo la distruzione e la scomparsa della copertura legnosa. Trattasi, comunque, di pascoli naturali, meglio definibili come naturalizzati, in quanto formatesi con l'intervento dell'uomo, sia pure soltanto nella fase iniziale, nella fase cioè di distruzione della copertura forestale: questi pascoli riguardano prevalentemente le zone del Castanetum, del Fagetum e del Picetum”* (Ianelli, 1989).

In base alle considerazioni relative all'origine dei pascoli si deduce perché, una volta abbandonate le pratiche di gestione del territorio, alcune specie erbacee prendono il sopravvento su altre, oppure si insediano specie arbustive od arboree. Il pascolo del bestiame e le pratiche antropiche di sfalcio permettono uniformità delle dimensioni delle diverse piante e ciò determina una minor probabilità che si verifichi una competizione fra le specie, che possono in tal modo coesistere (Leps, 1999).

Per quanto riguarda il ruolo della presenza dei sistemi pascolivi, indiscindibile dal pascolamento, ha assunto oggi un significato produttivo, extraproduttivo e complementare alla stessa. Le formazioni erbacee dei prati e dei pascoli offrono alimento diretto agli animali utilizzatori, ma svolgono anche altre funzioni (Cavallero et al., 2002): contribuiscono direttamente all'economia mondiale (Costanza et al., 1997), alla regolazione delle emissioni gassose in atmosfera e della circolazione idrica ed al controllo dell'erosione del suolo (Costanza et al., 1997); mentre assumono ruoli complementari in altri ambiti: facendo parte del patrimonio culturale e sociale (Lindborg et al., 2008), offrendo buone opportunità ricreative (Rounsevell et al., 2005) e concorrendo a mantenere la struttura del paesaggio (Sanderson et al., 2004). Inoltre, i sistemi pascolivi rappresentano la base del funzionamento ecosistemico, dei naturali cicli biologici e sono necessari per il mantenimento delle diversificazioni delle specie (Francia et al., 2005). Secondo la FAO (FAO, 2000; Velasquez, 2001a), sebbene la funzione produttiva rimanga la funzione primaria dell'agricoltura, coesistono altre funzioni secondarie che connotano l'attività agricola come multifunzionale. La nozione di multifunzionalità si basa sui concetti di equità e di sviluppo sostenibile etico, tenendo conto della crescita delle economie a livello globale, della stabilità, della creazione di occupazione (funzione economica), della produzione di prodotti in quantità sufficiente, ma anche del rispetto della qualità (sicurezza alimentare), dell'ambiente e delle risorse naturali (funzione ambientale) (Velasquez, 2001b).

Sebbene, in Toscana si tratti di risorse modeste, ai pascoli vanno quindi riconosciuti dei ruoli oltre a quello produttivo di fondamentale importanza ambientale quanto più l'areale d'interesse è marginale (Cavallero et al., 2002; Argenti et al., 2009).

Il pascolamento degli animali presenta effetti positivi sotto diversi punti di vista (economici, ecologici, gestionali, produttiva) relativi a aspetti che possono essere riassunti come segue:

- permette il mantenimento della biodiversità
- migliora l'aspetto del paesaggio consentendo la gestione di vaste superfici di terreni
- conduce ad un aumento del numero di specie pabulari e non;
- riduce l'accumulo di necromassa e le perdite di suolo;
- consente un miglior controllo delle specie invasive

- permette di utilizzare la scarsa disponibilità di erba che per la sua esiguità non potrebbe essere sfalciata e evita le perdite di conservazione che generalmente subiscono i foraggi
- si può praticare anche nelle aree dove è impossibile intervenire meccanicamente
- esercita una benefica azione sulla salute psicofisica degli animali

Per contro il pascolamento presenta anche alcuni svantaggi che riguardano la potenzialità produttiva soprattutto relativamente al danneggiamento del cotico erboso che si crea se questo non è opportunamente gestito e all'impossibilità di controllo degli effettivi consumi alimentari (Giardini et al., 2002). In effetti nelle aree in cui l'attività pastorale è gestita con criteri "molto" estensivi, senza una pianificazione spazio-temporale delle risorse, si assiste ad una riduzione del numero delle specie, con una evidente perdita di biodiversità, e ad una sostanziale variazione delle specie dominanti (Laser, 2002; Marriott *et al.*, 2004).

Inoltre, è necessario sottolineare il ruolo dei pascoli per la biodiversità. A questo aspetto è stata dedicata un'ampia bibliografia poiché essendo strettamente correlati con la conservazione di habitat, nonché nella trattazione riguardante le formazioni erbacee, i sistemi pastorali, rappresentano un tema cardine nella conservazione della biodiversità animale e vegetale (Watkinson et al., 2001). Le formazioni erbacee naturali e semi-naturali sono tra gli ecosistemi a più alta biodiversità; tale ruolo viene ritenuto di fondamentale importanza anche dalla Commissione delle Comunità Europee (1992) ed in particolare viene frequentemente sottolineata la necessità di mantenere i sistemi tradizionali di gestione pastorale o di reintrodurli laddove essi sono scomparsi per mantenere l'equilibrio delle dinamiche ambientali e socio-economiche. La perdita di biodiversità legata alle formazioni erbacee verificatasi negli ultimi decenni ha causato la diminuzione di alcune tipologie di cenosi (Hansson et al., 2000; Kahmen et al., 2002). Tali habitat stanno significativamente diminuendo in tutta Europa a causa della cessazione delle tradizionali pratiche di gestione; questo abbandono ha come principale conseguenza l'instaurarsi di successioni naturali che convertono i prati e i pascoli seminaturali in cespuglieti e boschi (Pärtel et al., 2005; Velev et al., 2008).

L'importanza dei pascoli nel mantenimento della biodiversità riguarda il livello di ricchezza di forme di vita negli ecosistemi erbacei e animali ma anche i fenomeni erosivi nei suoli (Gusmeroli et al., 2002). Per quanto riguarda le erbe dei pascoli la biodiversità è relativa sia alla composizione floristica, sia ai rapporti ponderali che si instaurano tra le diverse specie, all'interno di ogni singola comunità vegetale (Staglianò et al., 2002).

I sistemi agro-pastorali rappresentano, in Europa, uno degli ambienti più ricchi di biodiversità in assoluto (Moreira et al., 2005; Russo, 2007). L'azione di pascolamento degli erbivori domestici, soprattutto in sistemi di grandi dimensioni, ove gli animali possono muoversi liberamente, produce infatti un ambiente estremamente diversificato con microhabitat diversi tra loro idonei ad ospitare una moltitudine di specie animali e vegetali. Le risorse vegetali e gli animali che le pascolano sono i due attori principali del sistema, ma sono coinvolti anche microflora e microfauna del terreno, insetti, uccelli e piccoli mammiferi. Le ipotesi attuali sostengono che dall'ecosistema pascolivo dipenda la presenza di diversità fra specie (Guretzky et al., 2007) e che la perdita di biodiversità in scala locale, regionale e globale può influenzare e compromettere tutto l'ecosistema (Guretzky et al., 2007). Secondo l'evoluzionista Edward O. Wilson, fra i proponenti del termine biodiversità corrisponde "alla

varietà degli organismi a tutti i livelli, da quello delle varianti genetiche appartenenti alla stessa specie fino alla gamma delle varie specie, dei generi, delle famiglie e ai livelli tassonomici più alti; comprende anche la varietà degli ecosistemi, ossia la varietà delle comunità degli organismi presenti in un particolare habitat, e alle condizioni fisiche in presenza delle quali essi vivono” (Wilson, 1999). Si evince come la biodiversità abbia una struttura gerarchica, che comprende diversi livelli di organizzazione biologica, da quello genetico a quello ecosistemico. Da alcuni studi emerge come la grande diversità aumenti la stabilità degli ecosistemi, ossia la loro resilienza e resistenza ai fenomeni di disturbo (Chapin et al., 2000; Tilman, 2000; Zavaleta et al., 2009), garantisca la loro capacità di ritenzione degli elementi nutritivi e incrementi la produttività delle comunità vegetali (Tilman, 2000).

1.3 Classificazione dei pascoli

Per definire i pascoli, dal punto di vista agro- zootecnico, in modo completo in base al ruolo produttivistico che svolgono è necessario considerare, l'origine, la durata, e la composizione floristica.

In base all'origine, i pascoli possono infatti essere distinti in pascoli naturali, spontanei o artificiali.

1. naturali

Sono quelli presenti a quote più elevate del limite della vegetazione arborea. In relazione alle modalità di utilizzazione e di gestione a cui sono sottoposti possono mutare la loro composizione floristica quindi le caratteristiche quanti-qualitative della fitomassa prodotta. Tuttavia, in modo del tutto indipendente da tali variabili e quindi anche nel caso venga ridotto o sospeso il pascolamento di tali cenosi mantengono inalterata la loro caratteristica fondamentale e cioè quella di essere formati esclusivamente da specie erbacee o da queste ultime insieme ad alcune specie suffruticose e arbustive (Zilotto et al., 2004).

2. spontanei

Sono così indicati i pascoli presenti sotto il limite della vegetazione arborea dove si sono formati in epoca più o meno recente in conseguenza a tre specifici fenomeni: il disboscamento della superficie interessata; il successivo inerbimento spontaneo della superficie denudata con specie locali; l'utilizzazione da parte di animali della fitomassa prodotta dalla vegetazione di sostituzione (Zilotto et al., 2004). Anche tali pascoli possono risultare tra loro sensibilmente diversi in relazione all'ambiente e alle modalità di utilizzazione, alla zona altitudinale in cui si sono formati.

3. artificiali

Sono i pascoli formati a partire dalla distribuzione di semi appositamente scelti a tale scopo. I semi utilizzati possono appartenere ad una sola specie (monofita) oppure da un miscuglio (oligofiti o polifiti). Tali pascoli sono formati da specie ad elevata produttività e sono collocati in zone con caratteristiche pedo-climatiche favorevoli, pertanto sono presenti solitamente sotto il limite della vegetazione arborea. Il seme impiegato a tale scopo può provenire da specie presenti nella flora autoctona ma anche estranee alla stessa (Zilotto et al., 2004). Tuttavia, durante la fase di germinazione dei semi distribuiti artificialmente è possibile ipotizzare che possano germinare in numero più o meno elevato semi di specie locali che erano presenti nel terreno e che avevano interrotto proprio in quel periodo la fase di dormienza (Zilotto et al., 2004). Inoltre, con il passare degli anni e quindi con il progressivo compattamento del terreno si verifica l'entrata e la successiva diffusione di specie locali: l'ammontare e l'abbondanza delle specie che entrano nella coltura artificiale risulta inversamente proporzionali alla competitività espressa dalle specie seminate a causa essenzialmente della competitività propria delle singole e alle diverse modalità con cui viene gestito il pascolo (modo ed intensità di utilizzazione).

La destinazione a pascolo può essere permanente, poliennale o annuale in base alla durata delle colture.

1. Pascoli permanenti: comprendono le superfici pabulari presenti ininterrottamente da vari decenni in aree che non avrebbero altre destinazioni colturali alternative, se non l'impianto di specie arboree per opere di forestazione artificiale o naturale (Cavallero et al., 2002).

Generalmente la durata di tali pascoli condiziona la formazione sugli stessi di una vegetazione spontanea. Mentre i pascoli posti sopra il limite della vegetazione arborea sono infatti da considerare permanenti da sempre, quelli presenti sotto tale limite altitudinale possono essere considerati permanenti a partire dalla fase in cui il bosco è stato eliminato per far posto appunto al pascolo. Inoltre fino a 40-50 anni fa erano compresi in tale categoria quasi esclusivamente le superfici pabulari che presentavano vincoli ambientali severi quali un clima proibitivo, una pendenza elevata, un terreno superficiale, una rocciosità affiorante; attualmente, invece, rientrano in questa categoria anche le cenosi pabulari formatesi in altre aree.

2. Pascoli poliennali: riguardano le superfici pabulari che sono formate per svolgere la loro funzione per alcuni anni, spesso si tratta di appezzamenti in cui si presuppone una precedente o una futura destinazione colturale diversa dal pascolamento oppure parcelle che ospitavano seminativi abbandonati. Generalmente sono formati da poche specie (pascoli oligofiti) o, al limite, da una solamente (pascolo monofita).

3. Pascoli annuali: forniscono la produzione durante una sola stagione vegetativa e dovrebbero garantire una produttività talmente elevata da giustificare le lavorazioni necessarie. Pascoli ascrivibili a tale tipo sono rari nelle zone montane ma frequenti nelle zone italiane a clima mediterraneo dove sono utilizzati con il pascolamento anche erbai, stoppie o altri residui colturali.

Una terza caratteristica fondamentale allo scopo di definire i pascoli è la composizione floristica in quanto condiziona buona parte degli aspetti quanti-qualitativi. Per i pascoli naturali e spontanei la composizione floristica dei pascoli è il risultato dell'interazione di più processi: le azioni selettive e l'utilizzazione da parte degli animali. La prima azione selettiva è quella esercitata dalle caratteristiche pedoclimatiche della zona considerata sulle numerose specie, la seconda è quella svolta tra le specie all'interno della loro convivenza. Per tali motivi le cenosi pabulari, sono composte da specie con esigenze ambientali analoghe e tali da poter essere soddisfatte dalle caratteristiche pedoclimatiche dell'ambiente. In particolare, sono composte da quelle specie che in tale ambiente sono risultate per qualche motivo più competitive nei confronti di tutte le altre.

Inoltre, nei pascoli utilizzati da animali domestici alcune specie vegetali risultano favorite, altre svantaggiate e altre ancora rimangono indifferenti. Ovviamente le specie che risultano avvantaggiate aumentano la loro presenza rispetto a quelle sfavorite che la diminuiranno e a quelle indifferenti che la manterranno pressoché inalterata. L'effetto del pascolamento sulla composizione floristica del pascolo è da collegare principalmente al fatto che con il pascolamento vengono ridotti gli apparati epigei delle piante della cenosi pabulare e tale asportazione risulta più consistente per le piante con maggiore altezza. In questo modo viene ridotto in modo proporzionale anche il potere competitivo delle specie più grandi nei confronti di quelle di dimensioni minori e in particolare quello relativo all'esposizione alla luce (Zilotto et al., 2004).

1.4 Produttività, qualità dei pascoli e fattori influenti

La capacità di un pascolo di sostenere i fabbisogni degli animali è determinata dalla quantità di fitomassa (produttività) e dalle caratteristiche qualitative delle erbe (valore nutritivo). Considerando l'offerta foraggera di un pascolo è necessario considerare che principalmente si tratta di specie erbacee, ma sono anche appetite parti di piante arbustive ed arboree.

La conoscenza della produzione di fitomassa e della composizione chimica delle erbe dei pascoli ai diversi stadi vegetativi è rappresenta il primo passo per formulare i piani alimentari giornalieri.

Relativamente alla produttività, l'erba è a disposizione degli animali da settembre a maggio considerando che il suo ritmo vegetativo mostra un picco in autunno (15-25% della produzione) e uno in primavera (circa 70%). Tale andamento è fortemente influenzato da fattori ambientali stabili quali suolo, altitudine, esposizione ma anche da fattori variabili ovvero clima (temperatura e piovosità), stagioni e gestione (Pardini, 2006). La produzione risulta condizionata in modo negativo dalla diminuzione di temperature medie annue e stagionali e dal pH, parametri comunque correlati all'altitudine; mentre è influenzata in modo positivo alla piovosità cumulata della stagione vegetativa considerata. Il fattore limitante della crescita dell'erba nei climi temperati è la bassa temperatura invernale, nei climi tropicali è rappresentato dalle precipitazioni, mentre, nei climi mediterranei si può avere stasi sia per le basse temperature invernali e sia per l'aridità estiva (Cavallero et al., 2002).

La produzione media annua dei pascoli Italiani si colloca su valori medi compresi fra 2 e 2,5 t ha⁻¹ di sostanza secca, le cotiche meno produttive forniscono intorno a 0,5 t di ss ha⁻¹ mentre i pascoli più produttive delle Alpi e dell'Appennino centrale e settentrionale raggiungono 6,5 t s.s. ha⁻¹ (Cavallero et al., 2002). Secondo Sapia et al.(2011) la quantità di fitomassa per i pascoli Appenninici corrisponde a valori molto più bassi che corrispondono a 14-18 q/ha di sostanza secca. In Toscana, Vecchio et al. (2008) propone una produzione media registrata nei pascoli di montagna, collina e pianura, rispettivamente di 39,55 - 42,4 - 61,8 q/ha ss. Superchi e al. (2007), in una ricerca condotta in due pascoli di montagna dell'Appennino Parmense riporta una produttività media nettamente inferiore di 6,9 q/ha ss e di 7,4 q/ha ss. Basso et al. (1991) per la Toscana considera pascoli situati nella Provincia di Firenze nella quota altitudinale compresa tra 500-550 m s.l.m con produzioni molto variabili che vanno da 3 q/ha di ss a 48,2 q /ha ss. Anche per i pascoli Alpini, Basso et al. (1991) riportano produttività non costanti e comprese fra 6 q/ha ss e 44 q/ha ss. Inoltre, alcuni autori esprimono la resa media annua dei pascoli in unità foraggere, secondo Giardini et al. (2002), tale produttività per i pascoli italiani 397 UF ha.

E' necessario considerare che, spesso, la produzione annua determinata negli studi agronomici è un dato medio indicativo della quantità di erba. derivante dalle gabbie di esclusione al pascolamento, teso a valutare la capacità di carico del pascolo. Nel settore zootecnico, invece, è necessario stimare la fitomassa di erba a disposizione per gli animali giornalmente. Lo scopo infatti è definire un piano alimentare che riesca a soddisfare i fabbisogni degli animali e fissarne l'eventuale integrazione. Il dato di produzione media annua di un pascolo non è quindi indicativo e rappresentativo della quantità di erba che gli animali stanno effettivamente mangiando in un preciso momento.

La qualità dell'erba dei pascoli per l'alimentazione degli animali è il risultato della composizione chimica (sostanza secca; ceneri g., proteine g; frazione fibrose) delle erbe che

ne determinano i differenti valori nutritivi per gli animali. Il valore nutritivo dell'erba di un pascolo è, quindi, influenzato da molteplici fattori, tra cui lo stadio fenologico, la composizione floristica delle essenze al momento dell'utilizzazione da parte degli animali (Acciaioli et al., 2010a; Cavallero et al., 2002), nonché le caratteristiche pedo-climatiche del territorio. Questi fattori sono interconnessi fra loro e sono stati oggetto di studio di numerose ricerche condotte sul territorio nazionale ed internazionale (Sheaffer et al, 1990; Van Soest, 1994; Buxton, 1996; Pérez-Corona et al., 1998; Tallowin et.al, , 1999; Vásquez de Aldana et al., 2000; Bruinenberg et al. 2002; Arzani et al., 2006; Dale et al., 2013). Le caratteristiche chimiche e il valore nutritivo dell'erba fresca sono descritte nel capitolo 2(2.4 - 2.7.1)

I fattori che influiscono sulle caratteristiche quali-quantitative dell'offerta foraggera dei pascoli sono molteplici, ma riconducibili principalmente a: la composizione botanica, lo stadio fenologico, i fattori pedo-climatici e gli animali utilizzatori.

Composizione botanica

La composizione dei pascoli naturali è generalmente molto ricca di specie di cui alcune risultano predominanti (Ronchi et al., 2014): nella generalità dei casi, però, è un numero di specie abbastanza ristretto quello che assicura la maggior parte della fitomassa, e in particolare ancora minore è il gruppo di specie pabulari pascolato dagli animali (Cavallero et al., 2002).

Le essenze più interessanti per l'alimentazione degli animali appartengono alle famiglie delle graminacee e delle leguminose (Acciaioli et al., 2010a). Le graminacee di solito sono preponderanti e la loro precocità di sviluppo fa sì che siano più presenti all'inizio della stagione vegetativa, giungono però a maturazione relativamente presto a causa dell'apparato radicale superficiale che non consente loro di affrontare la siccità estiva (Acciaioli et al., 2010a). Con la fase di fioritura inizia ad accumularsi lignina nei tessuti di sostegno e ciò le rende poco digeribili e scarsamente appetibili, ne consegue che il loro utilizzo ideale è in stadi precoci, antecedenti alla fioritura. Nel complesso le graminacee hanno contenuti di fibra e glucidi maggiori delle leguminose per cui il valore energetico è più elevato, sono ricche di fosforo, ma povere di proteina e calcio.

Le leguminose sono invece ricche di proteina e calcio, ma povere di zuccheri e quindi meno energetiche. Il grado di lignificazione dovuto all'invecchiamento dei tessuti abbassa la digeribilità in maniera meno intensa rispetto alle graminacee, per cui possono essere utilizzate al meglio anche in piena fioritura. Il loro apparato radicale profondo le rende più resistenti alla siccità e quindi sono maggiormente presenti, nella composizione dei pascoli, quando la stagione vegetativa è avanzata. Alcune tipologie di prati, formati da miscugli di graminacee e leguminose se utilizzati ad uno stadio vegetativo precoce possono risultare una risorsa interessante per la loro ricchezza in proteine e vitamine (Noblet et al., 1993). Nella valutazione della composizione di un pascolo è importante considerare anche la presenza di specie meno appetite o addirittura rifiutate (infestanti) che possono compromettere fortemente il valore complessivo del pascolo (Acciaioli et al., 2010).

A seconda della destinazione geografica cambia anche la varietà di cotico erboso: nelle zone alpine predominano le specie poliennali, man mano che si scende in quelle centro-meridionali e insulari prevalgono le annuali. Le principali consociazioni spontanee erbacee della montagna Appenninica Toscana sono riconducibili principalmente al brometo (bromo eretto,

festuca ovina, coda di lepre, trifoglio, timo e tignamica); via via che l'ambiente si fa più arido si passa al brachipodieta, classica associazione secondaria più ricca di specie xerofile (brachipodio, erba mazzolina, festuca ovina, bromo eretto). Nelle zone con terreni più profondi e fertili si trova l'arrenatereta (avena altissima, avena d'oro, erba mazzolina, bromo, lupinella, ginestrino e trifoglio). Salendo in quota troviamo prima il festuceto (festuca rubra), poi il loietto- cinosureto (loietto, coda di cane, coda di topo, poa e trifoglio) e infine il nardeto (nardo, festuca rossa, poa alpina e bromo), (Acciaioli et al., 2010a).

Stadio fenologico

Lo stadio vegetativo (fase fenologica) è uno tra i fattori più importanti in grado di condizionare la quantità e il valore nutritivo delle erbe (McDonald et al., 2011). La fotosintesi produce zuccheri semplici (glucosio) che si uniscono a costituire le macromolecole delle componenti fibrose (emicellulosa e cellulosa) per formare foglie e fusti nuovi (Acciaioli et al., 2010). Questi processi conducono ad un progressivo aumento della massa vegetale, ma anche a cambiamenti della composizione chimica. In età giovanile l'erba è ricca di acqua e di proteine, a causa dell'intensa attività metabolica dei tessuti; con la crescita la pianta ha una maggiore necessità di tessuti fibrosi per mantenere la sua struttura, e quindi i principalmente aumentano i carboidrati strutturali, al momento della fioritura il fusto si prepara a sostenere i semi lignificando i suoi tessuti; al termine del ciclo vegetativo si ha una migrazione verso i semi di carboidrati di riserva (amidi) e proteine, con un progressivo impoverimento degli altri organi vegetali (McDonald et al., 2011; Acciaioli et al., 2010a). Vi è quindi una relazione inversa tra contenuto in proteina e fibra, che tuttavia può essere influenzata dall'applicazione di fertilizzanti azotati (McDonald et al., 2011). Oltre alle variazioni della componente organica, con la maturazione della pianta si verifica una diminuzione relativa al tenore di ceneri: ciò si riflette sulla percentuale di calcio e di magnesio (McDonald et al., 2011). In considerazione dell'aumento della sostanza secca il valore nutritivo aumenta fino ad una certa fase vegetativa che coincide, a seconda della specie, con la fase che precede la fioritura.

Appare chiaro quindi che lo stadio fenologico determina una continua modifica del valore nutrizionale del pascolo: con la crescita e la maturazione aumenta la quantità di foraggio ma diminuisce la sua qualità, di conseguenza il momento ottimale per l'utilizzo dell'erba deve essere un compromesso tra questi due aspetti (Casanova, 1980).

Fattori pedoclimatici

I fattori pedoclimatici influenzano le caratteristiche quali-quantitative dell'offerta foraggera sia direttamente (temperature, suolo altitudine temperature) sia per effetto delle condizioni che essi generano ovvero variazioni della disponibilità idrica e nel ciclo vegetativo (Ronchi, 1988).

Relativamente alla **temperatura**, quelle troppo elevate accelerano lo sviluppo degli steli e l'invecchiamento di tutti gli organi della pianta con conseguente aumento del tenore di costituenti parietali e di lignina, con sensibile diminuzione della digeribilità. Basse temperature determinano una diminuzione del valore nutritivo per essiccamento e caduta delle parti legnose (Demarquilly, 1982). Inoltre, gli animali risentono negativamente di alte temperature e umidità elevata, in tali condizioni di stress riducono le attività e l'appetito. Anche, il vento e la pioggia accentuano i disagi delle basse temperature aumentando i fabbisogni di mantenimento e riducendo le produzioni. Il vento inoltre rappresenta un effetto negativo sia per gli effetti meccanici particolarmente deleteri nelle zone di crinale e in inverno

per l'asportazione delle colture nevose sia per l'esasperata evapotraspirazione in estate (Cavallero et al., 2002).

La quantità e la frequenza delle precipitazioni nel periodo vegetativo, la persistenza della copertura nevosa che agisce da coibente termico sono, invece, gli elementi climatici che influenzano positivamente la continuità spaziale, la produttività, la qualità e la perennità dell'offerta foraggera (Cavallero et al., 2002).

La piovosità può influenzare la composizione minerale delle erbe del pascolo. Il calcio, per esempio, tende ad accumularsi nelle piante durante i periodi di siccità, mentre è presente in basse concentrazioni quando l'umidità del terreno è alta; al contrario, il fosforo appare in concentrazioni più elevate in condizioni di elevata piovosità (McDonald et al., 2011).

La scarsa disponibilità idrica, condizione di siccità, diminuisce la produzione di sostanza secca vegetale causando la perdita delle parti aeree della pianta e abbassamento del valore nutritivo (Ronchi, 1988)

Il **suolo** influisce soprattutto nelle fasi di colonizzazione e negli ambienti estremi (aree di altitudine, reazione acida o alcalina) condizionando la vegetazione e quindi la disponibilità alimentare. Il tipo di suolo può influenzare la composizione chimica dell'erba che deriva dal pascolo, specialmente il suo contenuto in minerali. Le piante normalmente reagiscono ad una carenza di minerali nel terreno limitando la loro crescita e/o riducendo la concentrazione dell'elemento nei loro tessuti (McDonald et al., 2011). Inoltre, carenze di elementi minerali possono influenzare la digeribilità e l'utilizzazione da parte degli animali delle erbe (McDonald et al., 2011). Le carenze di minerali più comuni nelle erbe di pascoli sono quelle di fosforo, magnesio, rame e cobalto. Anche l'acidità del terreno è un fattore importante che può condizionare l'assorbimento di molti elementi ad esempio sia il manganese che il cobalto sono mal assorbiti dalle piante in terreni calcarei (McDonald et al., 2011).

L'**altitudine** influenza la produttività della componente vegetale che decresce salendo di quota e di conseguenza negli ambienti montani. Dalla ricerca di Ziliotto et al. (2004) si evince come all'aumentare dell'altitudine la temperatura dell'aria diminuisce mediamente di 0,6°C ogni 100 metri, provocando così un accorciamento dell'attività vegetativa di circa 5 giorni e per tale dislivello ci si deve attendere, in media, una diminuzione della produzione foraggera di circa il 5%. Secondo Rieder et al. (1983) e Caputa (1969) oltre i 1000 m la resa annua diminuisce mediamente dell'8% ogni cento metri di altitudine.

La pendenza infine agisce negativamente sulla possibilità di utilizzare le risorse foraggere ed aumenta i danni da erosione provocati dagli animali (sentieramento), in particolare da quello a comportamento gregario ed abitudinario.

La **luminosità**, intesa come intensità e quantità di luce influenza la crescita della pianta essendo la luce un elemento fondamentale per la sintesi clorofilliana. La quantità di luce disponibile, influenzata dalla lunghezza del giorno, in condizioni ottimali quali la stagione primaverile esalta le funzioni fotosintetiche con aumento del tenore in glucidi solubili e conseguente aumento della digeribilità (Ronchi, 1988). La concentrazione di zuccheri e fruttani delle erbe, quindi può essere condizionata notevolmente dalla quantità di sole ricevuta dalla pianta (McDonald et al., 2011). In generale, in una giornata nuvolosa, il contenuto di carboidrati solubili di erba sarà inferiore in una bella giornata di sole (McDonald et al., 2011).

In condizioni di scarsa intensità di luce si verifica un aumento del tenore di nitrati, ceneri, cellulosa e lignina con una diretta diminuzione del valore nutritivo (Ronchi, 1988). D'altra

parte, anche gli animali sono fortemente condizionati dalla luce per l'attività sessuale, il rapporto luce/ombra regola infatti l'equilibrio ormonale ed i cicli riproduttivi.

1.5 Sistemi di valutazione dei pascoli

La caratterizzazione dei pascoli naturali in Italia è stata effettuata con approcci concettualmente diversi in relazione agli obiettivi di studio (Roggero et al., 2002). Diversi autori hanno contribuito a fornire una sintesi delle metodologie per la valutazione dei pascoli, che variano in funzione degli obiettivi che si vogliono raggiungere, del grado di precisione richiesto e dei mezzi disponibili (Vertes, 1988; Ziliotto et al., 1991; Frame, 1993; Daget et al., 1995). In tutti i casi, però, è necessario tener conto che gli accertamenti sui pascoli naturali a causa della loro elevata variabilità spaziale temporale presentano inconvenienti in termini di rappresentatività e onerosità operativa ma anche dal punto di vista delle conoscenze specifiche in campo botanico (Cavallero et al., 2002).

Dal punto di vista nutrizionale, è necessario considerare le caratteristiche nutrizionale delle erbe dei pascoli e le quantità a disposizione degli animali giornalmente. Lo scopo infatti è definire un piano alimentare che riesca a soddisfare i fabbisogni degli animali e fissarne l'eventuale integrazione.

Dal punto di vista agronomico, lo studio della vegetazione è affrontato essenzialmente in termini fitosociologici, fitogeografici e fitopastorali.

L'associazione vegetale, come unità tassonomica fondamentale, è la nozione di base del metodo fitosociologico. Le associazioni vegetali (insieme di specie fra cui alcune presenti in modo più regolare) e le unità di rango progressivamente superiori in cui queste vengono riunite (alleanza, ordine, classe) consentono di caratterizzare ambienti pastorali alpini, sub alpini e appenninici prevalentemente dal punto di vista qualitativo. Nel complesso dei casi però l'eccessivo numero dei complessi individuati e la copresenza di specie in categorie intermedie rendono difficile e insufficiente l'applicazione di questo metodo nei confronti delle esigenze del pastoralismo (Cavallero et al., 2002). Tuttavia, secondo Roggero et al. (2002) i dati sulla composizione floristica, le cenosi vegetali, la loro distribuzione spaziale, resi disponibili dalle indagini fitosociologiche per i pascoli del bacino del Mediterraneo, rappresentano una prima base conoscitiva per l'individuazione e la caratterizzazione agronomica delle associazioni vegetali di interesse foraggero.

L'approccio fitogeografico si basa principalmente sulla nozione di fascia vegetazionale, determinata da quoziente termico altitudinale e dal concetto di serie che esprime la dinamica di un popolamento vegetale che senza azioni antropiche dovrebbe evolvere verso lo stadio finale detto "climax". Tale approccio assume un significato più generale, e comunque, è complementare alla precedente classificazione ma non consente di considerare le diverse situazioni vegetazionali delle aree pastorali (Cavallero et al., 2002).

L'approccio fitopastorale, invece, vede la vegetazione principalmente come una risorsa alimentare non escludendo comunque gli aspetti ambientali e gestionali (Cavallero et al., 2002). Rispetto ai precedenti studi della vegetazione descritti in cui assume rilievo la presenza di specie, con questo metodo è evidenziata anche l'abbondanza delle stesse (Cavallero et al., 2002). Gli approcci fitosociologico e fitogeografico invece, prescindono dalla quantificazione della produttività (Biondi et al., 1995; Biondi et al., 1995a) e dalle caratteristiche qualitative delle specie che compongono il pascolo.

Il metodo fitopastorale richiede l'inventario delle popolazioni vegetali secondo criteri di omogeneità della vegetazione e di potenziale foraggero, inteso come offerta quanti-qualitativa di fitomassa palurabile disponibile in un determinato periodo di tempo in un' area. Ne deriva

l'individuazione di entità vegetazionali che prendono il nome di ecofacies¹ pastorali o facies pastorali in una determinata area, la loro rappresentazione cartografica e la stima della superficie rispettivamente occupata (Cavallero et al., 2002).

Uno degli obiettivi a cui è finalizzato l'approccio fitopastorale è comunque la determinazione del valore pastorale e del carico animale sostenibile dalla risorsa erbacea.

Fra i diversi metodi che consentono di collegare la composizione vegetazionale e il suo valore per il pascolamento quello del Valore Pastorale è il più usato per semplicità e applicabilità (Cavallero et al., 2002). Il valore pastorale è un indice specifico empirico di ogni essenza presente in un pascolo e consente di collegare la composizione vegetazionale di una determinata formazione al suo valore per il pascolamento. Alle specie di interesse pastorale è attribuito un indice specifico empirico da 1 a 5 elaborato da Pignatti (1982) in funzione di produttività, valore nutritivo, palatabilità e digeribilità.

Il Valore pastorale di un popolamento è calcolato come segue:

$$VP = (\sum (cs_i \times is_i)) / 5$$

- n = numero delle specie presenti;
- Is = indice specifico della specie i-esima, (variabile da 0 a 5) caratteristico di ogni specie che tiene conto di produttività, appetibilità e composizione chimica;
- Cs = contributo specifico della specie i-esima, ovvero la frequenza di ogni specie rapportata al totale dei contatti registrati;
- 5 = indice specifico (variabile da 0 a 5) caratteristico di ogni specie che tiene conto di produttività, appetibilità e composizione chimica.

Il VP può variare teoricamente da 0 (quando tutte le specie sono di nessun interesse foraggero) a 100 (caso in cui tutte le specie presenti sono ottime foraggere) e può essere utilizzato anche come indice rapido di confronto di diverse risorse pascolive.

Tuttavia, il Valore Pastorale non considera i fabbisogni animali ma si basa su indici di qualità specifici stimati solo su essenze foraggere erbacee standard, non considerando quelle arbustivo-arboree e non tenendo in considerazione le diversità tra specie nel comportamento alimentare. Inoltre, il valore del pascolo può subire delle variazioni non considerate con questo indice, in relazione ai processi dinamici della vegetazione che si possono innescare in seguito ai cambiamenti delle condizioni di utilizzazione (Roggero et al., 2002).

Per valutare in termini quantitativi l'offerta foraggera di un pascolo il sistema più immediato è quello di considerarlo come un prato e procedere allo sfalcio di aree campione, mirando alla migliore rappresentatività delle stesse. La valutazione del livello produttivo dei pascoli implica la determinazione della fitomassa aerea prodotta ma anche la distribuzione stagionale in funzioni di diversi fattori. La periodicità dell'accertamento può essere calcolata a priori indipendentemente dalla presenza dell'animali, attraverso l'ausilio di gabbie di esclusione per proteggere dal prelievo alcune porzioni, oppure seguendo l'effettivo ritmo del pascolamento (Cavallero et al., 2002). In quest'ultimo caso lo sfalcio di aree di saggio consente di valutare l'offerta foraggera prima e dopo il pascolamento e quindi, per differenza la quantità di erba consumata effettivamente.

¹ Ecofacies pastorale: è un'entità o unità vegetazionale sufficientemente omogenea per condizioni ecologiche.

La produzione di un pascolo può essere anche stimata conoscendo la relazione esistente fra offerta foraggera e altezza-fittezza dell'erba, l'applicabilità però ha maggiori successo in cotiche omogenee (Cavallero et al., 2002). L'accertamento successivo della qualità dell'erba si effettua con metodi di analisi bromatologica del foraggio per determinarne il valore nutritivo e le frazioni fibrose.

1.7 La gestione zootecnica del pascolo e il carico animale

La difficoltà nella gestione dei sistemi pascolivi consiste nel fatto che non esiste un equilibrio stabile tra il pascolo e gli animali che lo utilizzano, l'equilibrio in questione è dinamico, varia cioè nel corso dell'anno (la produzione erbacea principalmente in funzione del clima, i fabbisogni animali in funzione del ciclo biologico). Inoltre gli animali domestici interagiscono, nelle aree aperte, con gli erbivori selvatici, riducono la disponibilità di alimento in quantità difficilmente stimabile (Acciaioli et al., 2010a).

Per realizzare un corretto dimensionamento del carico del bestiame al pascolo è necessario stimare il numero di animali che dovrebbe essere immesso su una superficie per un certo periodo di tempo in modo da evitare gli effetti indesiderati connessi con un carico non equilibrato. La stima del carico si basa sul principio che gli animali influenzano positivamente il cotico erboso solo quando la loro consistenza è in equilibrio con l'offerta pabulare (Baldoni et al., 2002). In genere nei calcoli del carico ci si riferisce all'Unità di Bestiame Adulto (UBA) un'unità di misura "virtuale" pari ad un capo grosso di peso standard di circa 500 kg. Generalmente il carico in UBA è riferito alla superficie del pascolo (in ha) e alla durata del pascolamento (in giorni o stagioni o anno). Il numero di UBA dipende dalla composizione numerica della mandria e dal tipo di animale pascolante. Sono disponibili tabelle di trasformazione che permettono (per ogni tipo di animale reale esistente) di ottenere il numero di UBA e viceversa (tabella 1).

Tabella 1 Calcolo del carico espresso in UBA

UBA TIPOLOGIA ANIMALE	UBA	N° di animali per ogni UBA
Bovini adulti (> 2 anni)	1	1
Equini adulti (> 6 mesi)	1	1
Vacche da latte	1	1
Bovini tra 1 e 2 anni	0,6	1,7
Bovini giovani (< 1 anno), vitelli	0,4	2,5
Ovini	0,15	6,7
Caprini	0,15	6,7

Mettendo in relazione il carico animale in UBA per la superficie si ottiene il valore del carico istantaneo. Il carico stagionale invece può essere espresso moltiplicando le UBA per i giorni di pascolamento:

$$\text{Carico stagionale} = (n\text{UBA} \times dp) / S$$

in cui:

nUBA= numero di UBA presenti

dp = numero di giorni di pascolamento

S = superficie in ha

Questa formula non considera i fabbisogni animali, per cui alcuni autori tra cui Talamucci (1980) ha proposto un metodo ponderale che si basa essenzialmente sulla determinazione della produzione di un pascolo in un certo periodo in rapporto al fabbisogno degli animali.

$$\text{Carico} = ((P \times S) / (F \times D)) \times K$$

in cui:

P = produzione espressa in s.s./ha o in UFL e UFC.

S = Superficie in ha

F = fabbisogno giornaliero dell'animale espresso in s.s. o UFL e UFC

D = durata del pascolamento espressa in giorni.

K = moltiplica il risultato della formula in modo da considerare alcuni fattori limitativi.

Il coefficiente K è il prodotto di quattro coefficienti che tengono conto di altrettanti fattori importanti nella limitazione della capacità di carico:

- ka = coefficiente di valore alimentare, ottenibile da analisi della vegetazione e da indici caratteristici di ogni specie che ne descrivono la composizione e l'appetibilità;
- kb = coefficiente relativo alla pendenza;
- kc = coefficiente relativo all'esposizione;
- kd = coefficiente relativo all'ingombro.

Il coefficiente di valore alimentare (ka) mette in relazione il contributo ponderale di una determinata specie al pascolo con la sua composizione chimica e relativa appetibilità. Il coefficiente relativo alla pendenza (kb) viene determinato suddividendo il pascolo in classi omogenee di pendenza e attribuendo ad ognuna di esse dei valori. Il valore medio del pascolo si ottiene dalla media ponderata tenuto conto della superficie occupata da ciascuna classe.

Vengono differenziate 3 classi:

- Kb = 1 per pendenze tra 0 e 15%;
- Kb = 0,9 per pendenze tra 16 e 25%;
- Kb = 0,8 per pendenze > del 26%.

Allo stesso modo si ottiene il coefficiente di esposizione (Kc) che presenta tali valori per ogni classe:

- Kc = 1 per esposizioni tra NO e NE;
- Kc = 0,9 per esposizioni tra SE e SO;
- Kc = 0,95 per esposizioni intermedie.

Il coefficiente di ingombro (kd) può essere stimato dalla cartografia dell'area in esame e rappresenta la percentuale di superfici occupata da aree improduttive (infrastrutture, strade, ecc...).

La determinazione della capacità di carico, ossia dell'adeguato numero di animali pascolanti su una data superficie in un certo periodo permette la salvaguardia delle risorse foraggere naturali in quanto garantisce l'equilibrio fra la produzione e l'utilizzazione delle risorse, prevenendo, di conseguenza, forme di degradazione del cotico o del terreno che sono tipiche quando ci troviamo di fronte ad un carico superiore (sovraccarico) o inferiore (sottocarico) a quello di equilibrio. Il tentativo di risolvere il problema dal punto di vista tecnico consiste nella determinazione del corretto carico, ossia dell'adeguato numero di animali pascolanti su una data superficie per un certo periodo.

Sappiamo che un carico troppo elevato (sovraccarico) porta ad una degradazione del cotico per le utilizzazioni troppo frequenti che non consentono alle piante di riformare le riserve prima del successivo prelievo, si assiste inoltre ad una modificazione morfologica di esse, che assumono un portamento strisciante e prostrato, e con le radici disposte sempre più superficialmente. A lungo termine si verifica quindi una modifica della composizione floristica con rapida diminuzione delle specie pabulari, e aumento delle specie non pabulari, spinose e velenose. Infine, per l'eccessivo calpestamento, si ha la compattazione del suolo con perdita di continuità del cotico erboso e formazione di sentieramenti con aumento dei fenomeni erosivi.

Con un carico sottodimensionato (sottocarico) in genere si assiste ad un maggiore sviluppo di specie rustiche, solitamente di scarso valore pabulare, che non necessitano di elevata fertilità del terreno, come conseguenza di una ridotta quantità delle restituzioni animali. Questi ultimi, hanno a disposizione un surplus alimentare, e quindi possono scegliere concentrando la loro attenzione sulle migliori foraggere, le specie non appetite vanno a seme, con diminuzione della qualità del pascolo nel lungo periodo. Nelle praterie secondarie si osserva l'ingresso di arbusti e alberi che preludono al ritorno del bosco.

Gli effetti del sottocarico si verificano ovviamente ed a maggior ragione con il caso estremo dell'abbandono dei pascoli, in quanto la vegetazione potenziale della zona, costituita in genere da formazioni forestali, tende a ripristinarsi; le formazioni transitorie che si formano possono far insorgere alcune problematiche, come l'aumento del rischio di incendio. Nelle aree sopraforestali (praterie primarie) dove dominano alcune graminacee con foglie ricadenti, si creano piani di scivolamento incapaci di trattenere la neve con elevati rischi di valanghe quando la pendenza è elevata.

Le tecniche di pascolamento, assieme a numerosi altri fattori, hanno effetto su sviluppo e caratteristiche della vegetazione. La tecnica di pascolamento regola i ritmi di prelievo del foraggio, tenendo conto sia dell'evoluzione quali-quantitativa del pascolo che dei cambiamenti delle esigenze degli animali nelle diverse fasi fisiologiche: è necessario impostare dei turni di pascolo, utilizzando la superficie disponibile con una determinata combinazione spazio/tempo che permetta alle specie vegetali di ricacciare più volte, metta a disposizione dell'animale un prodotto nella fase fenologica ottimale e infine che spinga gli animali stessi ad utilizzare tutta la risorsa a disposizione. In questo caso si può parlare di un pascolo razionato. Anche, un carico istantaneo elevato è un mezzo efficace per limitare lo sviluppo di specie arbustive poco appetite e quindi inutilizzate, ma anche per apportare un maggior quantitativo di restituzioni le quali favoriscono le specie erbacee, graminacee in particolare.

Vari sono i parametri e gli elementi che possono influenzare il carico animale. In base alla tipologia differenziamo:

- elementi quantitativi: produttività del cotico, superficie del pascolo, fabbisogno alimentare degli animali, durata del pascolamento;
- elementi qualitativi: valore alimentare delle specie presenti; appetibilità dell'erba;
- elementi fisici: pendenza, esposizione, superficie inutilizzabile (ingombro);
- elementi di utilizzazione: specie animali; tecnica di pascolamento; presenza di punti d'acqua e di ricovero, disponibilità di scorte.

Dal punto di vista zootecnico, nella determinazione del carico degli animali è necessario tenere conto del valore nutrizionale che le erbe sono in grado di fornire agli animali in modo da coprire i fabbisogni specifici.

1.7 Il comportamento alimentare degli animali al pascolo

Gli animali in base alle loro preferenze, alle loro necessità, ma anche alle peculiarità anatomiche e fisiologiche del tratto digerente effettuano scelte durante il pascolamento.

Hofmann (1989) ha classificato i ruminanti secondo comportamenti alimentari diversi al fine di ottimizzare la fermentescibilità e digeribilità dell'alimento. Le differenze quali la modalità di prensione, le vie metaboliche intraprese dai nutrienti assorbiti, influiscono sul rapporto animale-vegetale-ambiente. Le differenze tra le specie mostrano una variabilità continua a partire dai selettori di concentrati, fino ai pascolatori di foraggi grossolani (Charles et al., 1995). Le tipologie intermedie sono quelle che meglio si adattano ai cambiamenti delle risorse alimentari, variazioni dovute alla stagionalità della vegetazione, ma anche alla utilizzazione di ambienti differenti (pascolo-bosco). La variabilità qualitativa e quantitativa delle risorse vegetali ha quindi plasmato una analoga varietà di specie animali che vi gravitano, e viceversa (adattamenti evolutivi- coevoluzione). Hofmann (1985) ha proposto una classificazione degli animali erbivori in:

- *selettori di concentrati* (brucatori), che scelgono alimenti facilmente digeribili quali gemme, giovani foglie, erba tenera, semi e frutti che contengono energia prontamente assimilabile (zuccheri, amidi, componenti fibrose non lignificate). Questi alimenti, che fermentano rapidamente, possono essere ingeriti di frequente e si assiste quindi a numerosi periodi di pascolo alternati da brevi fasi di ruminazione. A questa categoria appartengono specie selvatiche che hanno come habitat preferenziale il bosco (capriolo). Tra i non ruminanti appartengono a questa categoria i suini.

- *mangiatori di erba* (pascolatori), che riescono ad assumere grandi quantità di foraggi, anche grossolani, ricchi di fibra e relativamente poveri in valore nutritivo. I tempi lunghi di ruminazione richiesti comportano una bassa frequenza di ritmi alimentari. A questa categoria appartengono bovini e ovini, sia domestici che selvatici e tra i monogastrici gli equini;

- *categoria intermedia*, opportunisti, a cui appartengono quelle specie che sono in grado di diversificare le loro fonti trofiche. Sono animali dalle abitudini alimentari variabili in funzione dell'ambiente (pascolo, bosco) e della stagione, in questo modo, recuperando tutte le risorse, si avvantaggiano degli ambienti diversificati e l'Appennino, dove pascoli e boschi si intersecano in un mosaico di sistemi vegetali differenti, risulta essere il loro habitat ideale. A questa categoria appartengono il cervo e il daino, e tra i domestici anche la capra.

Lo studio e la conoscenza del comportamento alimentare degli animali al pascolo può fornire indicazioni relative a:

- ✓ la ripartizione quotidiana delle attività al pascolo, con riferimento all'influenza esercitata dai fattori climatici, dalle disponibilità foraggere e nel caso degli ovini dalla sorveglianza;
- ✓ i modi di spostamento dei branchi e di utilizzo degli alpeggi;
- ✓ il bilancio di utilizzazione del terreno;
- ✓ altre attività svolte nella giornata: bagni, grufolata gioco nel caso dei suini (Ronchi, 1988).

Gli animali si caratterizzano per: il loro comportamento sociale, l'organizzazione del tempo e l'utilizzo dello spazio pastorale. Le modalità di pascolamento delle diverse specie sono molteplici e riconducibili, oltre che alla preferenza alimentare, anche alle modalità di prelievo,

alla loro mole ed al loro comportamento sociale (gregarismo). Il comportamento sociale, anch'esso variabile in base alla specie e alla razza caratterizza gli animali in base alle abitudini gregarie: gli ovini sono tipicamente gregari, gli equini sono decisamente individualisti, mentre i bovini presentano caratteristiche intermedie. Quando non sono sottoposti a particolari vincoli gli animali sono in grado di organizzare il tempo e lo spazio. L'organizzazione giornaliera del tempo varia in funzione dell'età, della razza della vegetazione nonché delle infrastrutture presenti. Generalmente il periodo di pascolamento è ridotto se sono fornite integrazioni alimentari. Relativamente allo spazio gli animali, generalmente, separano le aree di prelievo di fitomassa da quelle di restituzione e di riposo.

Di seguito è riportata una breve descrizione del comportamento alimentare di bovini, ovini capre, equini e suini.

I bovini sono caratterizzati da scarsa capacità di selezione dovuta anche alla modalità di prelievo, infatti strappano la parte fogliare avvolgendola in un fascio con la lingua e in questo modo raccolgono anche le piante meno appetite lasciando però un residuo abbondante. Le loro feci sono ingombranti, ricche d'acqua, omogenee e facilmente degradabili, il riciclaggio della componente minerale e dell'azoto è rapido e determina una concimazione omogenea dei terreni. L'attività di pascolamento è effettuata prevalentemente nelle ore mattutine e pomeridiane, anche se è possibile osservare capi che pascolano di notte, soprattutto nelle stagioni calde. Durante la stagione estiva è dedicato più tempo alla ricerca di cibo, specialmente se scarseggia la risorsa vegetale. Ogni bovino utilizza in media tra 150-200 m² al giorno di superficie (Ronchi, 1988) che diminuisce in giornate piovose o con presenza di nebbia, in questo caso infatti gli animali stanno maggiormente raggruppati. La movimentazione della mandria dipende fondamentalmente dalla posizione dei punti di abbeverata, dalla disponibilità foraggera e dalla giacitura del terreno.

Gli ovini, pur limitandosi al pascolo erbaceo, sono animali più selettivi dei bovini, il prelievo dell'erba è infatti coadiuvato dalla motilità delle labbra che permette una scelta sia delle varietà che delle porzioni più tenere e appetite. Sono animali molto gregari ed abituarini; per questo tendono a non distribuirsi in modo omogeneo nell'area a disposizione frequentando sempre le stesse aree di riposo, vi provocano un accumulo di deiezioni.

Il comportamento degli ovini al pascolo è differente anche a seconda che si tratti di pascolo libero oppure guidato. Al pascolo libero iniziano a pascolare alle prime luci del giorno e terminano al crepuscolo con un impegno complessivo di 7-8 ore, (due cicli di circa 4 ore), la notte è dedicata al riposo in zone riparate (Ronchi, 1988). Nel corso della giornata possono abbeverarsi 2-3 volte, in funzione del clima e della ricchezza in acqua delle erbe. In giornate nuvolose l'attività di pascolo è limitata. La superficie media per capo può oscillare tra i 10 e 20 m² al giorno ma questo valore varia in relazione allo stato della vegetazione (aumenta in estate quando la vegetazione scarseggia) (Ronchi, 1988). I pascoli pianeggianti, consentendo il mantenimento del contatto visivo, determinano un aumento della superficie interessata da ciascun capo, viceversa accade in condizioni di elevata pendenza o zone alberate. Nel caso di pascolo guidato dal pastore viene condizionata l'attività degli animali nell'arco della giornata e si verifica uno sfruttamento più razionale delle risorse pascolive.

Le capre, con la loro capacità di ricercare, di appetire una grande gamma di alimenti, e di adattarsi a diverse diete in base alle variazioni climatiche e geografiche, si trovano, come comportamento alimentare, molto vicine alle specie selvatiche (Ronchi, 1988). Le capre sono note per la loro capacità di compiere maggiori distanze rispetto a quelle percorribili da bovini

ed ovini. Possono esplorare distanze dai 5,5 km al giorno durante i mesi invernali fino ai 3,5 km/giorno nei mesi più caldi (Lu, 1988); per quanto riguarda le esplorazioni altitudinale esse possono scalare in un giorno anche 800-900 m di quota. Questo comporta un loro forte impatto, più che sulla componente erbacea, su quella arbustiva e arborea, con le note ripercussioni negative del pascolo in bosco con questa specie. Le capre trascorrono 1/3 della giornata a ruminare e dedicano sino ad 11 ore al giorno alla ricerca del cibo. L'attività di pascolamento nelle capre generalmente si concentra in 2-3 periodi: la prima mattina, quando il clima è più fresco il primo pomeriggio e poco prima del crepuscolo, mentre durante la notte l'attività si ferma (Nastis, 1996).

Gli equini, monogastrici erbivori sono ritenuti molto selettivi verso le specie più appetite e nutritive, anche se, in condizioni di elevato carico, sono capaci di consumare le essenze più grossolane (opportunisti) tenendo uniformemente rasato il cotico erboso; ciò è reso possibile dalla loro modalità di prelievo tramite il taglio raso del foraggio con gli incisivi. In virtù delle caratteristiche delle loro feci sono in grado di migliorare la fertilità dei pascoli. Il comportamento degli equini è fortemente dipendente dalle stagioni e dalle condizioni climatiche; infatti in estate l'attività pascoliva si svolge prevalentemente di notte (Ronchi, 1988). Nelle ore centrali della giornata si riposano in luoghi riparati, riprendendo il pascolo in tarda serata. Le abbeverate, durante la giornata sono numerose. In autunno e inverno si riducono i momenti dedicati all'abbeverata e le fasi di riposo, gli animali si muovono più rapidamente e svolgono l'attività pascolativa soprattutto nelle ore diurne (Ronchi, 1988).

I suini sono onnivori e la loro dieta può includere una larga varietà di alimenti. I maiali selvatici mangiano, tuberi, radici, semi, erbe, germogli e foglie, consumano anche vermi del terreno, bruchi e lumache, uova e piccoli serpenti e roditori (Hafez, 1975, Van Putten 1975). Presentano uno spiccato senso dell'olfatto, e sono in grado di cibarsi sia mediante la ricerca di cibi in superficie, sia di quelli localizzati nel terreno. Infatti, l'area alimentare del suino può essere piuttosto estesa e questa specie è in grado di trovare il cibo ad una certa profondità attraverso l'attività di "grufolamento". I suini domestici al pascolo trascorrono 6-7 ore al giorno per la ricerca del cibo e per mangiare. Tuttavia, quando sono alimentati con concentrati, il tempo impiegato per mangiare è spesso inferiore di 10 minuti al giorno (Hafez, 1975). Secondo Baars et al. (2006) i suini dovrebbero tornare a fianco dei veri consumatori di foraggio ovvero dei ruminanti (Hafez E.S.E., 1975).

CAPITOLO 2

LE ERBE NELL'ALIMENTAZIONE DEGLI ANIMALI

2.1 Cenni di nutrizione: ruminanti e monogastrici

Nel tubo digerente avvengono una serie di processi di disgregazione meccanica e di idrolisi chimica per cui le molecole organiche complesse (proteine, glucidi, lipidi) presenti negli alimenti sono scissi nei principi nutritivi che, vengono assorbiti attraverso le mucose del tubo digerente, per essere utilizzati nei processi metabolici dell'animale (Bittante et al., 19990). Al fine di ottenere il massimo rendimento, nel processo di trasformazione cui l'animale sottopone l'alimento, bisogna tenere di conto dei fattori legati all'animale ed alle sue capacità di utilizzare gli alimenti (monogastrici e ruminanti) che interagiscono con le caratteristiche dell'alimento stesso (Antongiovanni et al., 2002).

I MONOGASTRICI

I monogastrici, presentano una digestione prevalentemente enzimatica anche se nel loro intestino crasso avvengono processi fermentativi microbici di una certa entità. Le proteine, l'amido e i grassi vengono digeriti, grazie all'azione di enzimi (proteasi, amilasi e lipasi) prodotti da ghiandole gastriche e intestinali. I nutrienti sono demoliti dai succhi digerenti in molecole di piccole dimensioni che vengono assorbite dalle pareti intestinali e, attraverso il circolo sanguigno, giungono ai vari tessuti ed organi dove sono utilizzate sia per fornire energia che per la sintesi di nuovi costituenti del corpo animale. A livello del grosso intestino avviene inoltre la fermentazione della costituente fibrosa degli alimenti (cellulosa, emicellulose e pectine) ad opera di ceppi batterici che porta alla liberazione di acidi grassi volatili, in parte assorbiti e utilizzati dal suino a scopo energetico. Questo passaggio digestivo risulta assai più efficace negli adulti che nei giovani e consente nei primi l'impiego proficuo di dosi anche abbastanza elevate di fibra. La popolazione microbica ospitata a livello di cieco-colon-retto produce anche vitamine idrosolubili (gruppo B) alcune delle quali vengono assorbite direttamente ed in alcuni casi possono essere recuperate attraverso la coprofagia che rappresenta un comportamento fisiologico abbastanza frequente.

I RUMINANTI

La digestione nei ruminanti, inizia nello stomaco (abomaso) e procede nell'intestino ma è preceduta da una digestione meccanica e da una fermentazione microbica che avvengono nel rumine-reticolo. L'apparato digestivo dei ruminanti è caratterizzato da un sistema complesso di stomaci. Il rumine è il primo di questa serie, che comprende, in ordine, il reticolo, l'omaso e l'abomaso. Questi compartimenti agiscono in un modo estremamente coordinato; ciò permette l'esistenza di un ambiente dove avvengono le fermentazioni degli alimenti ingeriti, e in cui gli stessi vengono continuamente mescolati con i microorganismi che vi abitano, dove le particelle di cibo vengono ridotte, dove i gas di fermentazione vengono assorbiti o espulsi e dove esiste una forte regolazione del flusso degli alimenti digeriti verso gli altri comparti. L'apparato ruminale rappresenta più del 50% del volume dell'intero apparato gastro-intestinale del ruminante e non meno del 10% della massa totale dell'animale.

Una prima fase di digestione che avviene nel rumine è di tipo meccanico, in esso avvengono continui movimenti di rimescolamento della massa di alimento, le cui parti più leggere e di

maggiori dimensioni come i foraggi, si dispongono in superficie, mentre le parti più piccole e pesanti si distribuiscono al di sotto e sono immerse nel liquido ruminale. Il rumine di per sé non secreta enzimi o muco, ma risulta estremamente tamponato per via delle secrezioni salivari. Il rimescolamento ha la funzione di portare la massa superficiale verso il cardias e l'esofago per il rigurgito del bolo mericico alla bocca e la sua rimasticazione accurata (ruminazione) che lo frammenta minutamente, cosicché dopo la deglutizione potrà essere maggiormente esposto all'azione fermentativa. La motilità del rumine permessa dai muscoli esterni al rumine è fondamentale per il ritorno in bocca dell'alimento ingerito con la ruminazione ma anche per rimescolare il contenuto, favorire l'eruttazione dei gas di fermentazione e spingere le parti più fine e parzialmente digerite verso l'abomaso. Questo induce movimenti del cibo all'interno del rumine stesso, permettendo ai microorganismi di venire in contatto e a maggiori quantità di gas di essere assorbiti dall'epitelio ruminale. Sia la peristalsi sia la ruminazione sono fortemente favorite dall'inserimento di foraggi nella dieta e ridotte dall'impiego di concentrati non voluminosi. Alcune parti degli alimenti ingeriti sono però talmente amalgamati con composti indegradabili (come la lignina) da risultare anch'essi inattaccabili dai batteri ruminali. Tuttavia la maggior parte dei composti proteici o dei carboidrati possono essere digeriti purché rimangano all'interno del rumine per un sufficiente periodo di tempo. La scomparsa di composti potenzialmente digeribili è quindi un processo dinamico controllato da due rates opposti: il tasso di fermentazione e tasso di passaggio. L'ingestione da parte dell'animale, la quantità di acqua assunta, la ruminazione e la salivazione sono tutti fattori in grado di influire sul rapporto tra i due rates, così come il trattamento che può subire l'alimento. Anche le caratteristiche del foraggio hanno un forte impatto sul comportamento alimentare dell'animale (Mertens, 1997; Faichney, 1986; Van Soest, 1994).

Il rumine si caratterizza, inoltre, perché vi ha sede una intensa digestione microbiologica cioè sostenuta da enzimi non prodotti dall'animale ma secreti da una numerosa e complessa popolazione batterica e protozoaria. I batteri presenti nel rumine sono raggruppati in: cellulolitici e emicellulolitici che attaccano preferenzialmente le cellulose e le emicellulose delle pareti cellulari dei vegetali, ed amilolitici che fermentano l'amido e gli altri carboidrati di riserva. Quasi tutti i ceppi batterici ed anche i protozoi sono proteolitici cioè attaccano le proteine dell'alimento arrivando a degradare gli amminoacidi liberati in ammoniaca e chetoacidi. La fermentazione e l'utilizzazione dei composti organici alimentari operata dai batteri avvengono in anaerobiosi e quindi i prodotti finali dopo essere stati assorbiti attraverso le pareti del rumine, possono essere ancora utilizzati dal metabolismo del ruminante che è invece di tipo aerobico. Nonostante, il rendimento complessivo della fermentazione sia inferiore rispetto a quello della digestione monogastrica la simbiosi con la micropopolazione ruminale è di grande importanza evolutiva perché i batteri sono in grado di digerire composti come la cellulosa e le emicellulose altrimenti indigeribili dagli enzimi secreti dall'animale e di sintetizzare amminoacidi a partire da azoto inorganico oltre alla vitamina K e alla vitamina del gruppo B.

2.2 L'ingestione e l'appetibilità

Il consumo volontario di alimenti che un animale è in grado di ingerire è detto capacità d'ingestione. Questa rappresenta la quantità giornaliera di alimenti che possono essere somministrati all'animale per soddisfare i suoi fabbisogni (Bittante et al., 1990). In natura il consumo volontario consente agli animali di far fronte ai propri fabbisogni, grazie ad un'innata tendenza di autoregolazione (Avondo et al., 2001).

Le variabili che influiscono sull'ingestione sono la conseguenza dell'interazione di numerosi fattori relativi all'animale (A), agli alimenti (B) e all'ambiente (C) (Avondo et al., 2001) e dall'interazione di questi fattori (D).

A. Una delle cause principali di variazione dei livelli d'ingestione è il peso corporeo a cui è correlato da un lato il metabolismo basale che incide sulle esigenze nutritive, dall'altro la morfologia dell'apparato digerente ovvero il volume del rumine o dello stomaco. Un metodo empirico ma molto diffuso per stimare la capacità d'ingestione è quello di calcolarlo come percentuale sul peso corporeo, tuttavia analizzando la regressione nell'ambito di ciascuna specie e tipo genetico non sempre si riscontra la stessa tendenza (Avondo et al., 2001). Relativamente ai meccanismi fisiologici lo stato di sazietà è determinato dall'insieme fattori fisici, metabolici e di learning associations (Forbes 1995). I meccanismi fisiologici coinvolti riguardano essenzialmente i due centri ipotalamici: un centro di sazietà e un centro dell'appetito; essi sono regolati da recettori presenti nel tratto digerente che, sensibili alla concentrazione di alcune sostanze (glucosio nei monogastrici, acidi grassi volatili in particolare acetico e propionico nei ruminanti) o allo stato di tensione delle pareti del rumine inviano segnali di feedback ai due centri (Avondo et al., 2001). L'ingestione e i conseguenti processi di assorbimento danno luogo a un "pool energetico" associato ad un aumento di metaboliti presenti nel sangue, destinato alle necessità soggettive: produzione di calore corporeo, accrescimento del feto, produzione di latte, etc. Quanto maggiori sono le esigenze nutritive e quindi le richieste dei vari tessuti del corpo tanto più intensamente i metaboliti verranno allontanati dal sangue (Avondo et al., 2001). L'abbassamento del tasso ematico consentirà all'animale di assumere altri alimenti finché non sarà raggiunto un accumulo di metaboliti tale da dar luogo al segnale di blocco al centro ipotalamico dell'appetito (Avondo et al., 2001). Poiché i processi di assorbimento e l'assimilazione da parte dei vari tessuti si verificano dopo un lasso di tempo elevato, si ipotizza che l'animale, dopo il pasto, abbia la capacità di intuire per esperienza (learning associations) l'effetto nutritivo di un alimento sulla base delle proprietà organolettiche (Avondo et al., 2001). Di effetto più immediato sono altri segnali che provengono dai recettori sensibili allo stato di tensione del tratto digerente, ne sono un esempio i foraggi grossolani, a bassa velocità di transito che determinano uno stato di riempimento del rumine impedendo l'ulteriore assunzione di cibo. Un simile effetto di riempimento viene, inoltre, esercitato dal grasso viscerale e dallo stato di gravidanza avanzata (Avondo et al., 2001). E' tuttavia da considerare che il tasso ematico di metaboliti e/o il livello di tensione delle pareti ruminali che portano allo stato di sazietà, spesso, hanno limiti superiori rispetto a quelli raggiunti per soddisfare le esigenze nutritive e ciò può spingere l'animale oltre ai suoi fabbisogni.

Infine anche le interazioni sociali modificano il livello d'ingestione di alimenti degli animali: nei suini l'alimentazione di gruppo in box aumenta i consumi complessivi, benché si crei una maggiore variabilità di crescita poiché i soggetti dominanti tendono ad escludere gli altri dalla

mangiatoia (Bittante, 1990). Lo stimolo sociale collegato all'assunzione di cibo è rilevante anche nel pollame.

B. Lo stato di sazietà e la capacità d'ingestione sono legati al tipo di alimento a disposizione dell'animale: alimenti a elevata densità energetica fanno raggiungere il livello soglia di metaboliti o comunque fanno innescare il processo di learning associatiom determinando il blocco dell'assunzione prima che i prestomaci o lo stomaco abbiano raggiunto un grado di riempimento sufficiente per determinare il senso di sazietà.

In generale il consumo volontario di alimento varia in funzione del suo contenuto in pareti cellulari e della sua digeribilità (Bittante et al., 1990). Quando la digeribilità di un alimento è molto bassa anche l'ingestione da parte dell'animale è limitata, poiché la ridotta digeribilità è dovuta a un elevato contenuto in pareti cellulari che rendono l'alimento molto voluminoso. Di conseguenza il consumo è limitato a causa di un notevole effetto fisico di riempimento o ingombro del tubo digerente. Questa situazione descritta per alimenti con elevato contenuto di pareti cellulari è trasferibile a una dieta ricca di foraggi molto fibrosi o a un pascolo con erbe ad uno stadio fenologico avanzato (Bittante et al., 1990).

Inoltre, anche l'eccessiva polverosità delle miscele o dei foraggi ha un effetto negativo sull'ingestione.

C. L'ambiente di allevamento, il rispetto delle condizioni dei principi di benessere, ma anche i fattori climatici e la possibilità di pascolamento sono alcune variabili ambientali che influiscono sul consumo volontario di alimenti. In particolare in caso di temperature elevate ed al crescere dell'umidità relativa si osserva una riduzione del consumo di alimenti associato riduzione dei processi di termogenesi (digestivi e metabolici); questi ultimi risultano più elevati nei poligastrici i quali producono calore anche mediante le fermentazioni ruminali. Inoltre, all'allungarsi del fotoperiodo si verifica una maggiore ingestione di alimenti specialmente nel pollame e nei ruminanti. Le sollecitazioni degli animali al pascolo rendono complessa la previsione dei consumi alimentari di erba rispetto agli animali alimentati in stalla.

D. La specie, la tipologia e fisiologia di animale, l'ambiente in cui gli stessi vivono e le caratteristiche degli alimenti sono in grado di interagire come fattori fra di loro creando un effetto complessivo positivo o negativo sull'ingestione volontaria di alimenti. Inoltre, considerando animali con libero accesso al pascolo oltre alle caratteristiche qualitative dell'erba fattori entrano in gioco animali variabili fisiche, fisiologiche e psicologici (tab. 2) (Vallentine, 1990) nonché aspetti comportamentali che possono modificare sensibilmente la capacità d'ingestione.

Alcuni studi svolti sul comportamento alimentare degli ovini al pascolo hanno evidenziato il ruolo svolto, nella regolazione del consumo di erba, della struttura del pascolo (sward canopy), che rappresenta la combinazione di diversi parametri quale: l'altezza delle piante, il rapporto fra foglie e steli, la lunghezza degli internodi, la densità intesa come numero di piante per unità di superficie e quant'altro può caratterizzare la distribuzione spaziale della fitomassa (Hodgson, 1985)

Tabella 2 Fattori che influenzano l'ingestione di erba al pascolo da parte dei ruminanti (Vallentine, 1990 - modificato)

Ingestione	Elevata Ingestione	Bassa Ingestione
Fattori fisici	Grande mole dell'animale Limitato stato ingrassamento	Piccola mole dell'animale Buono o elevato stato d'ingrassamento
Fattori fisiologici	Rumine grande Fabbisogni di lattazione Movimento	Rumine piccolo Fabbisogno di mantenimento Produzione di latte modesta Stato di salute non ottimale
Fattori psicologici	Esperienza di pascolamento	Inesperienza di pascolamento

Le varie teorie di sulla regolazione del consumo di alimenti trascurano l'aspetto relativo all'appetibilità dell'alimento che può indurre l'animale a continuare a mangiare nonostante tutti i meccanismi regolatori, oppure al contrario a ridurre (Avondo et al., 2001). Gli stimoli dettati da tatto, odorato e gusto possono agire in competizione con i fattori che controllano l'ingestione: alimenti contaminati da muffe, o semplicemente essenze foraggere dal sapore poco gradito possono interferire sul funzionamento del meccanismo regolatore (Avondo et al., 2001).

L'interesse che la pianta o parte di essa suscita nell'animale ai fini alimentari è detta appetibilità e varia notevolmente in funzione di più fattori, che agiscono contemporaneamente: stadio fenologico dell'erba, specie vegetali presenti, disponibilità quantitativa dell'erba e di altri alimenti, preferenze della specie, esigenze alimentari, presenza di sostanze o fattori antinutrizionali, stadio fisiologico dell'animale. L'appetibilità è massima nei tessuti verdi e giovani (Borgioli, 1981), si mantiene alta allo stadio vegetativo di inizio fioritura o spigatura ma decresce in modo significativo in seguito alla lignificazione (Pardini, 2006). Le specie con maggiore appetibilità sono quelle con abbondante fogliosità, con foglie morbide e germogli apicali mentre quelle in cui sono presenti molti steli o con foglie strette e ruvide sono poco appetite (Pardini, 2006). Ne sono un esempio le graminacee che risultano molto appetite allo stato foglioso mentre vengono progressivamente rifiutate dalla spigatura in avanti oppure alcune specie di cardo utilizzate esclusivamente nel periodo giovanile.

Le preferenze di ogni specie animale pascolante sono diverse da quelle di altre; secondo Van Soest (1982) la sovrapposizione alimentare tra bovini ed ovini sarebbe di circa il 70%, e quella di entrambe queste specie con i caprini inferiore al 10%. È stato inoltre messo in luce da Cantiani (1985) che nell'ambito della stessa razza, alcune specie vengono appetite soprattutto dagli adulti e rilasciate invece dai giovani bovini.

Inoltre, gli animali che utilizzano il pascolo selezionano le erbe in base alle esigenze alimentari al momento del prelievo: tendenzialmente preferiscono la parte più proteica e meno fibrosa (Cavallero et al., 2002). Un foraggio meno appetito presenta anche un minor valore nutritivo, quindi il suo contributo alle richieste dell'animale è ulteriormente penalizzato ed diventa inadatto alle categorie di bestiame più esigenti. Secondo Ziliotto et al. (2004b): "Volendo essere ancora più analitici, anche l'apprendimento influisce sulla scelta delle diverse specie, con il risultato che gli animali abituati al pascolo o i giovani che hanno pascolato con la madre mostrano una gamma di preferenza più ampia".

Ogni specie vegetale, in un dato momento, è caratterizzata da una sua appetibilità, legata a fattori intrinseci che la distinguono. È certamente difficile cercare di stabilire un valore

assoluto di preferenza delle diverse specie vegetali da parte degli animali, in primo luogo perché il risultato del confronto dipende da quello che è disponibile: ad esempio una specie di solito mediamente appetita potrebbe risultare molto gradita in presenza di specie poco appetite. Le fluttuazioni di disponibilità di erba nelle diverse stagioni e nei periodi all'interno di esse, determinano differenze nel tasso di utilizzazione da parte degli animali che sono indotti a consumare maggiormente e lasciare pochi residui nei periodi di minore disponibilità, mentre selezionano le specie e le parti e lasciano maggiori residui inutilizzati nei periodi migliori (Pardini, 2006). Il consumo di erba è, quindi, correlato inversamente alla disponibilità. Quando gli animali hanno a disposizione maggiore quantità di erba ne consumano una proporzione minore in quanto selezionano le specie e le parti di pianta che preferiscono e lasciano le altre per i momenti successivi. Con il tempo l'erba matura perde appetibilità; di conseguenza viene calpestata e sciupata dagli animali. La scelta del tipo di animale e la gestione della tecnica di pascolamento contribuiscono molto a ridurre lo spreco di erba (Pardini, 2006).

Di seguito, si riporta una tabella riassuntiva dei fattori che condizionano l'appetibilità dell'erba (tabella 3).

Tabella 3 - Fattori che condizionano l'appetibilità dell'erba (Valentine, 1990 - modificato)

Appetibilità	Alta	Bassa
Fattori morfologici della pianta	Foglie succulente Foglie grandi Elevato rapporto foglie/steli Assenza di spine Fioritura scarsa Elevata facilità di accesso al materiale verde Nuova crescita/ricrescita	Foglie secche Foglie piccole Basso rapporto foglie/steli Presenza di spine Fioritura abbondante Difficoltà di accesso al materiale verde Età elevata dell'erba
Fattori ambientali	Piante non imbrattate dalle deiezioni Piante sane Superfici delle piante bagnate dalla rugiada Andamento atmosferico che favorisce la crescita Temperature fresche	Piante sporche di deiezioni Piante danneggiate da insetti o da patologie Superfici delle piante asciutte Andamento atmosferico che ritarda la crescita Temperature elevate Temperature molto basse e brinate
Fattori chimici della pianta	Elevato contenuto in proteina e zuccheri Basso contenuto di sostanze tanniche, assenza di alcaloidi e glucosidi ad azione tossica	Elevato contenuto in fibra, lignina, silice; basso contenuto di magnesio e fosforo Elevato contenuto in sostanze tanniche, presenza di alcaloidi e glucosidi

Tra i fattori che rendono sgradita una pianta si possono indubbiamente ricordare la presenza di difese naturali, come margini fogliari taglienti o duri, o composti antinutrizionali (tannini, alcaloidi, etc.) o velenosi. Esistono, infatti, delle sostanze in grado di inibire l'utilizzazione di altri principi nutritivi e che possono risultare tossiche alterando funzionalità digerenti dell'animale e la salute stessa dell'animale interagendo con l'assorbimento dei nutrienti della dieta. Queste nel complesso prendono il nome di "fattori antinutrizionali" e si possono differenziare in base alla loro natura esterna o interna alla specie vegetale in esogeni (inquinanti ambientali e micotossine) ed endogeni (tannini, glucosidi cianogenetici, alcaloidi

tossici, fitoestrogeni, saponine, inibitori tripsinici). Fra i più comuni vi sono i tannini che causano una riduzione della digestione delle proteine poiché inattivano gli enzimi proteolitici. Nella cellula vegetale i tannini sono separati dalle proteine e dagli enzimi del citoplasma, quando avviene una lesione (attacco da parte di erbivori) la reazione tannica può rendere meno assimilabile la pianta per il predatore. I tannini sono composti polifenolici comuni nelle piante vascolari; nelle angiosperme in particolare sono associati ai tessuti legnosi. Negli alimenti impiegati per l'alimentazione dei bovini possono essere riscontrati nel pisello proteico e nella fava, nel sorgo e nei sottoprodotti della vinificazione. I tannini possono essere divisi in due grandi classi: tannini idrolizzabili e tannini condensati. La differenza tra le due categorie risiede nel fatto che se quelli idrolizzabili in seguito a idrolisi acida (bollitura e lavaggio con acido cloridrico) vengono idrolizzati cioè scissi, quelli condensati se sottoposti allo stesso trattamento si polimerizzano in elementi più complessi. I tannini condensati vengono utilizzati dai vegetali come apparati di difesa dai predatori. Un gruppo di essi, i cosiddetti tannini concentrati (CTs) sono molto distribuiti nelle leguminose da foraggio. Bovini e ovini sono molto sensibili ai CTs mentre le capre sviluppano maggior resistenza e tolleranza ai composti. In queste ultime gli effetti tossici dei tannini possono manifestarsi qualora la loro dieta sia costituita perlopiù da molte specie contenenti i suddetti fattori antinutrizionali per esempio alcune specie di Acacia (Kumar, 1992). Gli effetti primari dovuti all'azione tossica dei tannini si manifestano in deterioramento ed indebolimento delle funzioni ruminali, diminuzione dell'assorbimento, alterazione della crescita di peso vivo dell'animale e della crescita della lana nelle pecore. Alcuni effetti dovuti ai tannini non possono essere considerati del tutto nocivi. Infatti, ad alti livelli di tannini concentrati (100-120 g CTs/kg di sostanza secca del legume) si è registrata un abbassamento dei livelli di parassitismo gastrointestinale nei giovani agnelli; mentre, livelli più moderati (30 - 40 g/kg sostanza secca del legume) hanno incrementato la quantità di proteine by-pass utilizzabili ed hanno portato alla diminuzione del gonfiore del rumine nei bovini (D'Mello, 2000).

2.3 Le esigenze nutritive degli animali

Gli animali si alimentano allo scopo di mettere a disposizione del proprio organismo i principi nutritivi necessari per le funzioni biologiche vitali (mantenimento), ma anche per le altre attività fisiologiche accrescimento, lattazione, produzione di pelo, etc. Tali normali produzioni fisiologiche si trasformano in prodotti zootecnici ed è interesse dell'allevatore sostenerle e migliorarle, garantendo agli animali gli alimenti e le condizioni di allevamento più consone alla loro efficienza produttiva e riproduttiva, conciliando le esigenze biologiche (delle specie allevate e dell'ambiente coinvolto) con quelle economiche dell'azienda (Acciaioli et al., 2010a).

In natura, sono disponibili tutte le risorse necessarie per il sostegno alimentare degli animali, lo dimostra il fatto che specie selvatiche vivono e si riproducono utilizzando le risorse dei boschi e dei pascoli naturali (Acciaioli et al., 2010a). Da questo punto di vista i punti critici del "sistema al pascolo" sono essenzialmente due: la continuità della disponibilità di alimenti e la loro qualità nell'arco dell'anno in funzione delle esigenze nutritive degli animali e dei prodotti che si vogliono ottenere (Acciaioli et al., 2010a).

Le esigenze nutritive degli animali sono determinate da molteplici fattori, principalmente la specie e lo stato fisiologico (tipo e quantità di produzione) e l'ambiente, e si identificano con i fabbisogni di mantenimento, di accrescimento e di lattazione (Acciaioli et al., 2010a).

I fabbisogni di mantenimento sono tutte quelle spese, energetiche e proteiche, che l'animale deve sostenere per mantenere costante la sua temperatura corporea, per compiere le azioni vitali di base (respirazione, circolazione sanguigna ecc.) e per effettuare il movimento volontario (Acciaioli et al., 2010a). La quantità di energia (soprattutto glucidi e lipidi), proteine, minerali e vitamine richiesta da un animale per soddisfare il proprio fabbisogno minimo per lo svolgimento delle funzioni vitali è stata definita con il concetto di metabolismo basale (Bittante et al., 1990). Essa corrisponde alla quantità di calore prodotta da un animale in ventiquattro ore in condizioni di digiuno, neutralità termica, e di riposo e corrisponde alla quantità di energia chimica contenuta nei tessuti corporei che l'animale ha catabolizzato (Bittante et al., 1990). Il metabolismo basale da quindi la misura del fabbisogno di energia minima per il mantenimento delle funzioni vitali in condizioni standardizzate ma non tiene conto dell'energia supplementare necessaria per assicurare il movimento, il lavoro digestivo e la maggiore intensità metabolica; per tali motivi, "il metabolismo basale è strettamente legato al fabbisogno di mantenimento, ma è sempre inferiore ad esso" (Bittante et al., 1990).

L'energia che serve al mantenimento dell'animale varia in funzione delle dimensioni e della superficie corporee (Peso Metabolico), tuttavia, le condizioni ambientali e le modalità di allevamento possono influire molto: al pascolo gli animali avranno fabbisogni energetici più elevati per attuare gli spostamenti alla ricerca del cibo e questi saranno ancora maggiori sui terreni declivi e poco produttivi. Il clima ha una influenza fondamentale in quanto nei periodi più critici, con basse temperature e vento, oppure temperature ed umidità elevate, gli animali sono costretti a consumare più energia per la termoregolazione (Acciaioli et al., 2010a).

I fabbisogni di produzione sono quelli necessari per le produzioni ovvero l'energia contenuta nei principi nutritivi viene incorporata nelle molecole sintetizzate dall'animale per aumentare la massa corporea (muscoli o grasso), contenuta nelle secrezioni (latte), o in altri prodotti (uova, lana). La quantità e la qualità dei principi nutritivi forniti, oltre a quelli richiesti per il mantenimento corrispondono ai fabbisogni di produzione e possono essere suddivisi in:

- fabbisogni di accrescimento che corrispondono all'energia e ai principi nutritivi accumulati dal corpo progressivamente con la crescita (Bittante et al., 1990). Si tratta dell'accrescimento del numero di cellule e delle loro dimensioni ma anche di accrescimenti differenziati per velocità e caratteristiche morfologico strutturali dei vari organi o di parti del corpo (sviluppo morfogenetico e accrescimento allometrico) (Antongiovanni et al., 2002). L'aumento di peso interessa negli animali giovani principalmente lo scheletro ed i muscoli con elevate necessità di proteine e minerali; negli adulti l'accrescimento comporta essenzialmente la deposizione di grasso (Bittante et al., 1990).

- fabbisogni di lattazione che corrispondono all'energia e ai principi nutritivi necessari contenuti nel latte prodotto. In effetti sia che il latte rappresenti una produzione zootecnica sia nei casi in cui viene utilizzato esclusivamente dal lattante, i fabbisogni per la sua produzione possono essere quantitativamente importanti e in generale i fattori da tener conto nel razionamento e per determinare i fabbisogni partono proprio dalla composizione del latte (Antongiovanni et al., 2002). Differenze marcate si hanno fra le esigenze delle diverse specie, sia per la quantità della produzione che per la diversa composizione del latte (percentuale di grasso e proteina) (Acciaioli et al., 2010a); non sempre tali fabbisogni riescono ad essere coperti con le sostanze assorbite nel tratto digerente, in questi casi le riserve corporee (principalmente grassi, sali minerali dello scheletro, ma anche proteine dei muscoli) si depauperano per compensare queste carenze (Bittante et al., 1990). Tale meccanismo di compensazione entro certi limiti è considerato fisiologico, ma deve essere controllato e ridotto al minimo con le opportune tecniche di alimentazione.

- fabbisogni di gravidanza che corrispondono all'energia e ai principi nutritivi necessari per lo sviluppo dell'embrione e poi del feto, per la formazione dei liquidi e degli invogli fetali, nonché per lo sviluppo dell'utero e della mammella. In linea generale rimane contenuto per gran parte della gravidanza ma aumenta rapidamente nell'ultimo periodo in coincidenza con lo sviluppo dei tessuti e degli organi del feto (Bittante et al., 1990). Inoltre, la femmina non aumenta i propri fabbisogni solo per sostenere lo sviluppo fetale e dell'utero, ma tende a depositare riserve corporee attraverso il meccanismo fisiologico indicato come anabolismo gravidico necessario e auspicabile in natura per garantire prole numerosa, di elevato peso alla nascita e con buona capacità di accrescimento (Antongiovanni et al., 2002).

Altri fabbisogni che devono essere ricordati negli animali sono quelli legati alla gametogenesi. Nonostante che, essa in se richiede quantità insignificanti di energia e materia è necessario sottolineare che essa si svolge sotto il controllo dell'attività endocrina, soprattutto dell'ipofisi a partire dalla pubertà, che è strettamente legata allo stato nutrizionale dell'individuo.

Per quanto riguarda la connessione fra l'alimentazione e l'attività ovarica, sono noti gli effetti del *fushing* sul debutto iniziale e post anestro dell'attività ovarica (Antongiovanni et al., 2002).

2.4 Il valore nutritivo degli alimenti e delle erbe

Il potenziale nutritivo di un alimento non è una caratteristica intrinseca, ma il risultato dell'interazione fra alimento e animale: ciò significa che uno stesso alimento può manifestare valori nutritivi diversi a seconda di come e con quale specie animale viene impiegato.

Il valore nutritivo degli alimenti, cioè la loro capacità di trasformarsi in prodotti animali, riguarda principalmente il loro potenziale energetico (fornito da amido, zuccheri semplici e grassi) e il valore proteico (quantità e valore biologico della proteina), oltre che i contenuti vitaminici e minerali (Acciaioli et al., 2010a). Generalmente si parla di valore nutritivo per esprimere la quantità di energia che i componenti chimici di un alimento possono rendere effettivamente disponibile per il metabolismo dell'animale (Bittante et al., 1990), cioè la capacità di tali elementi di trasformarsi in prodotti animali (Acciaioli et al., 2010a). In senso più ampio il valore nutritivo deve poter esprimere la quota di energia suscettibile ad essere utilizzata dall'animale insieme alla quota di sostanze azotate digeribili e metabolizzabili, di minerali, vitamine ecc.

Per valore energetico si intende la quantità di energia presente negli alimenti e capace di tradursi in energia contenuta nei prodotti animali. L'efficienza di trasformazione dipende essenzialmente dalla loro digeribilità e dalla capacità di essere utilizzati a livello metabolico da parte degli animali.

La proteina dei tessuti animali può essere utilizzata solo a partire dalla proteina presente negli alimenti.

La determinazione del valore nutritivo consente da un lato di quantificare l'efficienza di trasformazione dagli alimenti alle produzioni, e quindi di classificare gli alimenti stessi secondo una scala di valori, e dall'altro permette, una volta conosciuti i fabbisogni energetici dell'animale, di prevedere la risposta produttiva ottenibile con l'impiego di ciascun alimento. I primi metodi messi a punto per attribuire un "valore nutritivo" agli alimenti definiti "empirici", si basavano su una semplice comparazione di alimenti in funzione delle risposte produttive che essi potevano sostenere quando venivano somministrati ad animali in condizioni controllate. In seguito si è passati a metodi "scientifici" che invece di valutare semplicemente il rendimento degli alimenti, si sono rivolti a determinare il reale contenuto di energia ed a verificare le diverse perdite che questa subisce nel corso dei processi digestivi e metabolici (Antongiovanni et al., 1998) e le quote proteiche effettivamente disponibili per gli animali (paragrafo 2.5)

Il valore proteico degli alimenti è determinato non solo dalla quantità di proteina presente ma anche dalla sua qualità definita valore biologico. Il concetto di valore biologico indica il valore delle proteine digeribili per la sintesi proteica in riferimento all'attitudine dell'azoto contenuto nella proteina ad essere assorbito e utilizzato per compensare le perdite endogene e mantenere costante il deposito proteico tessutale (Martelli, 1997). Il valore biologico viene definito come il rapporto tra azoto trattenuto e azoto assorbito proveniente da un determinato alimento.

L'azoto trattenuto rappresenta quello contenuto negli amminoacidi poi incorporati nelle sintesi proteiche dell'organismo (tessuto muscolare, latte, lana) ed è inferiore a quello assorbito dal tubo digerente in quanto una quota degli amminoacidi assorbiti viene catabolizzata e l'azoto che ne deriva viene escreto nelle urine.

In verità il valore biologico così misurato è apparente perché comprende anche fonte di azoto endogeno che non hanno direttamente a che fare con la quota digerita:

- l'azoto metabolico fecale (N di costituzione di enzimi in digeriti, degli acidi biliari, degli sfaldamenti dei tessuti, delle spoglie della microflora intestinale)
- l'azoto endogeno urinario (N di catabolismo microbico, degli aminoacidi e dalle basi puriniche del ricambio dei tessuti)

Il valore biologico delle proteine è variabile del loro apporto di aminoacidi essenziali che non essendo sintetizzabili dall'organismo rappresentano il fattore limitante per l'entità delle sintesi proteiche cellulari. Nel caso in cui l'amminoacido limitante è stato tutto utilizzato per la sintesi proteica cellulare questa non può proseguire e gli altri aminoacidi assorbiti, presenti in eccesso, vengono catabolizzati contribuendo ad accrescere l'azoto urinario (Bittante et al., 1990).

La valutazione del valore biologico è importante per gli alimenti destinati ai monogastrici mentre risulta meno utile nei ruminanti poiché in questi l'azoto alimentare viene parzialmente degradato a livello ruminale per poi essere incorporato nella proteina batterica. Di conseguenza la conoscenza del valore biologico della proteina per i ruminanti fornisce un dato poco attendibile dello spettro amminoacidico assorbito nel tratto intestinale in quanto solo in parte deriva dall'alimento, mentre proviene soprattutto dalle cellule batteriche. Mentre la composizione delle proteine batteriche è costante, quella della proteina alimentare che lascia in degradata il rumine è variabile. E' necessario quindi esprimere una valutazione sulla suscettibilità della fonte azotata alla degradabilità ruminale, definita degradabilità.

La degradabilità ruminale delle proteine alimentari viene misurata mediante incubazioni nel rumine di animali cannulati di sacchetti porosi di nylon di sacchetti in nylon porosi contenenti il campione sottoposto in questo modo a una vera e propria fermentazione batterica. Inoltre la degradabilità può essere stimata mediante tecniche di laboratorio basate su incubazioni in vitro di inoculi ruminali o preparazioni enzimatiche.

Il valore nutritivo delle erbe fresche è elevato negli stadi giovanili soprattutto per la presenza elevata di proteine e glucidi, mentre negli stadi avanzati aumenta il contenuto di fibra e lignina relativa soprattutto a steli o culmi con riduzione del valore nutritivo di circa un terzo (Acciaioli et al., 2009). Il significato biologico della variazione della composizione chimica delle erbe durante le diverse fasi fenologiche deriva dal fatto che la fotosintesi produce zuccheri semplici (glucosio) che si uniscono a costituire le macromolecole delle componenti fibrose (emicellulosa e cellulosa) per formare foglie e fusti nuovi. In età giovanile l'erba è ricca di acqua e di proteine, a causa dell'intensa attività metabolica dei tessuti; con la crescita la pianta ha una maggiore necessità di tessuti fibrosi per mantenere la sua struttura, e quindi i principalmente aumentano i carboidrati strutturali, al momento della fioritura il fusto si prepara a sostenere i semi lignificando i suoi tessuti; al termine del ciclo vegetativo si ha una migrazione verso i semi di carboidrati di riserva (amidi) e proteine, con un progressivo impoverimento degli altri organi vegetali (McDonald et al., 2011; Acciaioli et al., 2010a). Oltre alle variazioni della componente organica, con la maturazione della pianta si verifica una diminuzione relativa al tenore di ceneri: ciò si riflette sulla percentuale di calcio e di magnesio (McDonald et al., 2011). In considerazione dell'aumento della sostanza secca il valore nutritivo aumenta fino ad una certa fase vegetativa che coincide, a seconda della specie, con la fase che precede la fioritura.

Inoltre il valore nutritivo varia in base alla composizione floristica, con valori più elevato nei pascoli con maggior percentuale di leguminose, rispetto alle graminacee.

Nella tabella 4 sono riportate alcuni esempi del valore nutritivo dell'erba fresca di pascoli espressa in Unità foraggiere.

Tabella 4 Foraggi verdi: valore nutritivo (kg/ss)

Tipo di pascolo	Stadio vegetativo	UFL	UFC	Bibliografia
Pascoli di pianura (Normandia)	levata	0,99	0,95	INRA , 2010
Pascoli di pianura (Normandia)	spigatura prefioritura	0,84	0,77	INRA , 2010
Pascoli di pianura (Normandia)	fioritura maturazione	0,65	0,55	INRA , 2010
Pascoli di collina (Auvergne)	Levata	1,01	0,98	INRA, 2010
Pascoli di collina (Auvergne)	spigatura prefioritura	0,84	0,77	INRA, 2010
Pascoli di collina (Auvergne)	fioritura maturazione	0,77	0,58	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base graminacee	Levata	0,77	0,69	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base graminacee	maturazione	0,61	0,51	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base graminacee	Ripresa vegetativa	0,79	0,71	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base leguminose	levata	0,78	0,70	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base leguminose	maturazione	0,69	0,61	INRA, 2010
Pascoli di Montagna A base leguminose	ripresa vegetativa	0,79	0,72	INRA, 2010
Pascoli di montagna	media annuale	0,81	-	Bittante et al., 1990
Pascoli di montagna (Appennino Parmense)	media annuale	0,72	0,63	Superchi et al., 2007
Pascoli di montagna (Altopiano d'Asiago)	media annuale	0,76	-	Rossato, 2011

2.4.1 Utilizzazione dell'energia alimentare

I principi alimentari organici rappresentano per gli animali la materia di base sia per costruire e/o riparare i propri tessuti, come nel caso della sintesi di prodotti come latte, uova, sia nel caso di fonte di energia per il lavoro. Tutte le diverse funzioni sono accumulate dal fatto che esse implicano un trasferimento di energia e ciò vale sia quando l'energia chimica è convertita in energia termica e/o meccanica sia quando l'energia chimica è convertita da una forma all'altra. L'energia chimica contenuta in ogni alimento e nei suoi composti organici può essere misurata come la quantità di totale di calore liberata dalla completa combustione (ossidazione) dell'alimento. Questa quantità di energia viene definita energia lorda (EL) e, poiché, l'utilizzazione energetica dei composti organici avviene tramite ossidazione, risulta su un piano puramente ipotetico disponibile per l'animale (Bittante et al., 1990). Una parte dell'Energia Lorda di un alimento ingerito non è disponibile per l'animale perché viene persa nei composti alimentari non digeriti. Detraendo quindi dall'energia lorda quella contenuta nelle feci prodotte a partire da quel alimento si otterrà l'energia digeribile (ED).

La quantità di energia digeribile dipende dalla digeribilità degli alimenti quindi dalla loro composizione chimica e rappresenta il principale fattore in grado di influenzare il valore nutritivo. In linea generale l'energia digeribile rappresenta per i ruminanti circa l'85% dell'EL negli alimenti concentrati e il 40% della stessa nei foraggi; nei monogastrici considerando che gli alimenti utilizzati sono più omogenei il range di valori varia da 85% in farina di mais e frumento a 65% nella crusca (Bittante et al., 1990).

Neppure l'energia digeribile è completamente disponibile per il metabolismo, in quanto vi è una quota di energia non escreta nelle feci ma persa nei gas prodotti dalle fermentazioni ruminanti e nell'intestino crasso e nei composti azotati non completamente ossidati provenienti dal catabolismo delle proteine ed eliminata nelle urine. Detraendo da ED la quota persa con il metano quale prodotto delle fermentazioni e quella urinaria si ottiene l'energia metabolizzabile (EM). Questa rappresenta la quota di energia contenuta nei principi nutritivi assorbiti e utilizzabili nel metabolismo. Nei ruminanti le perdite di metano possono variare da 5 a 10% dell'EL con valori alti per i foraggi molto fibrosi, mentre le perdite urinarie sia per i monogastrici sia per i ruminanti sono circa il 5% (Bittante et al., 1990).

Una parte dell'EM non viene però utilizzata per le sintesi metaboliche ma viene liberata come calore a causa del rendimento non perfetto dei processi metabolici. Tale perdita sotto forma di calore, detta "azione dinamica specifica" è variabile in base ai principi nutritivi: minima per i lipidi (3%), intermedia per i carboidrati (6%) e massima per le proteine (16%) (Bittante et al., 1990). Inoltre bisogna tenere in considerazione le quote di energia che l'animale ha dovuto consumare per assicurare il lavoro digestivo, per l'assorbimento intestinale, per il trasporto sanguigno e l'assorbimento cellulare dei principi. Se dall'EM si sottraggono tali quote (dette *heat increment*) si ottiene l'energia netta (EN) ovvero quella effettivamente guadagnata dall'organismo.

Nei monogastrici il rapporto di EL e EN è costante rispetto all'EM e di conseguenza il valore nutritivo degli alimenti può essere espresso in termini di energia lorda o digeribile e non è necessario calcolare l'energia metabolizzabile. Relativamente ai suini, i contenuti energetici degli alimenti e i fabbisogni sono generalmente espressi in modi diversi in base ai diversi Paesi: in USA e Europa è preferita l'energia metabolizzabile mentre in Germania l'energia netta (Antongiovanni et al., 2002). Per il calcolo del contenuto di energia metabolizzabile a partire da composizione chimica e nutrienti digeriti sono state proposte alcune equazioni (Alderman, 1985; INRA 1984)

Per i ruminanti invece l'efficienza di utilizzazione dell'energia metabolizzabile e il rendimento di trasformazione è variabile a seconda della produzione per cui è utilizzata (mantenimento, accrescimento-ingrasso, gravidanza, lattazione). In particolare il rendimento di trasformazione dell'energia metabolizzabile in energia netta è strettamente legato alla concentrazione della stessa energia metabolizzabile sulla sostanza secca. In particolare il rendimento:

- per il mantenimento mostra un contenuto aumento lineare al crescere del tenore di EM/kg s.s.;
- per la lattazione mostra un andamento curvilineo con un aumento, seguito oltre certi valori di EM/Kg s.s. da una diminuzione;
- per l'accrescimento e l'ingrasso mostra una crescita pronunciata e continua con la concentrazione energetica.

2.4.2 La digeribilità degli alimenti e delle erbe

Il valore potenziale di un alimento quale apportatore di un determinato principio nutritivo è indicato dall'analisi chimica, ma il suo reale valore per l'animale può essere stimato solo dopo aver tenuto conto delle inevitabili perdite che si verificano nel corso della sua digestione, dell'assorbimento e della sua utilizzazione metabolica (Mc Donald et al., 1992). La prima quota non disponibile per l'animale è proprio quella che non viene assorbita ed espulsa con le feci (Mc Donald et al., 1992). La digeribilità di un alimento esprime la proporzione dei suoi costituenti chimici che può essere digerita e assorbita lungo il tubo digerente ed è un passo fondamentale per la stima della quantità di energia e di principi "strutturali", come le proteine, che esso può assicurare all'organismo animale (Bittante, 1990). La digeribilità di un alimento è rappresentata dalla quota che non è escreta con le feci e che è stata assorbita nell'apparato digerente dell'animale (Mc Donald et al., 1992). La digeribilità degli alimenti si esprime come percentuale dei principi nutritivi non presenti nelle feci raccolte in un determinato periodo di tempo (di solito 24 ore) rispetto alla quantità degli stessi nutrienti ingeriti nello stesso periodo di tempo.

$$\text{Digeribilità \%} = \frac{\text{ceneri A.I.A. /feci} - \text{ceneri A.I.A. /alimento}}{\text{ceneri A.I.A. /feci}} \times 100$$

ceneri A.I.A. /feci

La quota di sostanza secca digerita e assorbita lungo il tubo digerente viene espressa mediante un coefficiente di digeribilità che può essere determinato sperimentalmente mediante prove di bilancio, eseguite su animali in condizioni controllate.

Nella conduzione delle prove di digeribilità *in vivo* si deve tener conto che non tutte le molecole semplici che si vengono a formare durante i processi digestivi vengono assorbite (anidride carbonica, metano e sostanze fecali endogene). In tale contesto assumono rilievo i composti azotati provenienti da desquamazioni dell'epitelio intestinale, da enzimi e da spoglie batteriche che vanno a costituire il cosiddetto azoto metabolico fecale e devono essere stimati e detratti dalle sostanze azotate fecali per ottenere quelle realmente provenienti dall'alimento. Si parla quindi di digeribilità "apparente" o "reale" delle proteine a seconda che sia stata effettuata o meno tale correzione (Bittante et al., 1990).

Poiché le prove di digeribilità *in vivo* risultano complesse e onerose, questo parametro può essere stimato prove di laboratorio *in vitro* che prevedono di sottoporre un campione dell'alimento all'azione di soluzioni enzimatiche per simulare i processi digestivi degli animali. Generalmente questi metodi forniscono risultati che, in valore assoluto, sono diversi da quelli ottenibili *in vivo*, nei quali possono però essere trasformati mediante l'uso di apposite equazioni (Bittante et al., 1990).

Infine, la digeribilità degli alimenti può essere desunta molto semplicemente da valori tabellari o da equazioni basate sui principali componenti chimici. In questi casi, però, esiste un margine di errore più elevato. Sulla base di queste considerazioni sono state proposte numerose equazioni che, a partire dalla composizione chimica variamente determinata, consentono di stimare la digeribilità degli alimenti (Bittante et al., 1990).

La digeribilità costituisce un dato molto variabile poiché non è una caratteristica intrinseca dell'alimento ma dipende dall'interazione fra alimento e animale (Antongiovanni et al., 2002).

La digeribilità infatti è influenzata da molteplici fattori fra cui sono rilevanti i fattori estrinseci e intrinseci all'alimento stesso.

Tra i fattori estrinseci si ricorda:

- la specie animale: le differenze più consistenti si osservano tra monogastrici e ruminanti, questi ultimi infatti hanno la struttura anatomica (prestomaci) che permette loro, grazie alla simbiosi con una ricca microflora batterica e protozoaria, di digerire (fermentare) la fibra. Anche tra i monogastrici si evidenzia una migliore utilizzazione di questa componente vegetale nelle specie erbivore;
- l'età: l'apparato digerente dei giovani non possiede attività enzimatica ben sviluppata;
- fattori alimentari estranei all'alimento: la digeribilità è migliore se si ha un adeguato apporto di proteine, minerali e vitamine;
- il livello di ingestione: la quantità di alimenti consumata deprime la digeribilità poiché al suo aumentare si verifica un aumento della velocità di transito del bolo alimentare lungo il tubo digerente con una conseguente riduzione del tempo in cui la massa alimentare è esposta all'attacco degli enzimi digestivi;
- la razza e le differenze individuali.

Tra i fattori intrinseci all'alimento si ricorda:

- la composizione chimica: i carboidrati strutturali, che costituiscono le pareti delle cellule vegetali, sono considerati il principale fattore che condiziona la digeribilità degli alimenti vegetali. Certamente la lignina è uno dei fattori che più riduce la digeribilità sia deprimendo la digestione di altri componenti, fibrosi e non, sia ostacolando la penetrazione degli enzimi digestivi all'interno delle cellule lignificate.
- la presenza di tannini: in elevate concentrazioni riducono la digeribilità.

La digeribilità delle erbe dei pascoli è fortemente influenzata dallo stadio vegetativo delle stesse al momento dell'assunzione da parte degli animali. Tuttavia la relazione fra crescita, maturazione e digeribilità è complicata in quanto vi è il primo periodo primaverile detto "plateau" (della durata di circa un mese) durante il quale la digeribilità delle erbe resta abbastanza costante e al fine del quale è associata la fase di spigatura di alcune specie; dopo di che la digeribilità della sostanza organica diminuisce bruscamente (McDonald et al., 2011). Mentre la digeribilità di proteine, grassi e carboidrati contenuta risulta molto elevata e solitamente poco variabile, sia pure l'eccezione dell'amido, quella della fibra è, al contrario, relativamente bassa e molto variabile (Bani, 2007). In effetti, nella cellula vegetale il contenuto cellulare è principalmente composto da carboidrati solubili e proteine che sono quasi totalmente digeribili. Per le pareti cellulari, invece, la digeribilità varia in funzione maturazione (McDonald et al., 2011). In realtà, soprattutto nei ruminanti ciò che determina il peggioramento della digeribilità non è il semplice contenuto di pareti cellulari ma il loro grado di incrostazione di lignina. Infatti sia la cellulosa che le emicellulose sono potenzialmente fermentescibili nel rumine ed è la lignina che essendo inattaccabile da parte dei batteri ne impedisce la scissione. Le varie frazioni di fibra e la fibra stessa della pianta presentano una diversa digeribilità. Per i ruminanti il contenuto delle cellule (proteine, zuccheri, amidi, grasso) ha una digeribilità del 98%; la parete della cellula (NDF) del 62%; le emicellulose del 79%; la fibra ADF (cellulosa, lignina) del 30%; la lignina è invece indigeribile.

Inoltre, la digeribilità dell'erba è anche influenzata dal rapporto foglie/steli: nelle erbe molto giovani gli steli appaiono più digeribili rispetto alle foglie, ma con l'avanzare dello stadio fenologico la digeribilità della frazione fogliosa diminuisce molto lentamente, mentre quella degli steli rapidamente (McDonald et al., 2011).

2.5 Sistemi di espressione del valore energetico e proteico

I primi studiosi ad aver introdotto dei metodi per la determinazione del valore nutritivo furono i tedeschi Thaer ed Einhoff che proposero un metodo analitico di laboratorio di determinazione delle quote digeribili dei principi nutritivi. Successivamente Wolff e Lehmann sulla base del metodo precedente misero a punto il metodo del “*potere energetico degli alimenti*”, attribuendo ad ogni classe chimica (carboidrati, lipidi, protidi ecc..) un valore energetico espresso in kcal/g e costruendo determinati rapporti tra di essi.

Nel 1933 sulla base di questo metodo Forbes propose il metodo attualmente utilizzato, il TDN o Total Digestible Nutrients. Questo esprime il contenuto di energia metabolizzabile degli alimenti anche se parte dalla misura dei principi nutritivi digeribili. Venne concepito per i monogastrici per cui era sovrastimato per i ruminanti poiché non teneva conto delle perdite dovute alla produzione di metano (CH₄). Se infatti nei monogastrici ogni kg di sostanze nutritive digeribili (TDN) corrisponde a 4.100 kcal di energia metabolizzabile, per i ruminanti, a causa delle perdite di metano l'energia metabolizzabile di 1 kg di TDN si aggira attorno alle 3.650 kcal. Il sistema parte da due presupposti:

- 1) uguali quantità di frazioni digeribili di carboidrati e proteine alimentari hanno gli stessi contenuti potenziali di energia metabolizzabile mentre il grasso digeribile ne contiene una quantità 2,25 volte maggiore;
- 2) l'energia metabolizzabile ha rendimenti costanti in termini di energia netta di mantenimento (0,75) di lattazione (0,69), e di accrescimento-ingrasso (0,58). Di conseguenza questo sistema sovrastima i foraggi soprattutto se vengono utilizzati proprio per l'ingrasso.

La formula della misura del TDN espressa in (g/kg) è:

$$\text{TDN} = \text{PD} + \text{EID} + \text{FD} + 2,25 \text{ EED}$$

in cui:

PD: le proteine digeribili,

EID: estrattivi inazotati digeribili,

FD: fibra digeribile,

EED: estratto etereo digeribile.

In pratica i grassi digeribili vengono valutati presupponendo che forniscano a livello metabolico più del doppio dell'energia dei carboidrati digeribili.

In Francia l'INRA Institut National de la Recherche Agronomique (INRA,1979; INRA 2010) ha sviluppato un sistema di espressione del valore energetico più completo. La semplificazione per la valutazione degli alimenti proposta dall'INRA, considera che gli animali in accrescimento destinano circa 2/3 dell'EM al mantenimento e 1/3 all'accrescimento-ingrasso. Poiché si riconosce che il valore energetico di un alimento non è unico e costante ma varia in funzione di vari parametri fra i quali il più importante è la destinazione produttiva, l'INRA adotta unità di misura di cui le principali sono: unità foraggiere carne (UFC o UFV) e unità foraggiere latte (UFL).

Questo sistema parte dal contenuto di energia lorda degli alimenti, ovvero dal loro calore di combustione. Se l'energia lorda (EL o EB) non si conosce si può utilizzare l'equazione di Schiemann che partendo dalla composizione chimica dell'alimento, tenendo conto che il

calore di combustione dei carboidrati non strutturali è indicato in 4,17 kcal/g, quello dei carboidrati strutturali è 4,79 kcal/g, quello delle proteine è 5,72 kcal/g e quello dei grassi è 9,5 kcal/g:

$$EL = 5,72 PG + 4,79 FG + 4,17 EIA + 9,50 EE + \Delta$$

Dove PG : proteina grezza, FG: fibra grezza, EIA: estrattivi in azotati ed EE: estratto etereo. Il simbolo Δ è un fattore di correzione diverso a seconda delle categorie di concentrati.

Per quanto riguarda i foraggi ed in particolare le erba fresche l'equazione è molto più semplificata poiché l'EL (EB) è in funzione del solo contenuto di proteina grezza ed è schematizza così:

$$EB = 4531 + 1,735 * MAT + \Delta$$

Dove anche in questo caso Δ varia in base alla categoria di foraggio

L'energia digeribile (ED), se non tabulata, può essere misurata direttamente oppure calcolata a partire da equazioni di stima. Per l'energia metabolizzabile (EM) viene proposta una stima ossia un'equazione di regressione per il calcolo del coefficiente di conversione della ED in EM. Tale equazione è in funzione della fibra grezza, della proteina grezza e del livello di produzione animale espresso in multipli del livello energetico di mantenimento (NA niveau d'alimentation):

$$EM = (EM/ED) \times EB \times dE.$$

$$EM / ED = (84,17 - 0,0099 * CBo - 0,0196 * MATo + 2,21 * NA) / 100$$

in cui: MATo = tenore in proteina grezza sulla sostanza organica (g/kg); CBo = tenore in fibra grezza sulla sostanza organica (g/kg).

L'energia Digeribile è calcolata tramite equazioni di stima a partire da coefficienti di digeribilità dell'energia (dE) in base a equazioni di stima della digeribilità della sostanza organica (dMO) che prendono in considerazione 6 gruppi di materie prime (Sauvant et al., 2002).

$$dMO = 90,1 - 0,95CB + 0,044MAT$$

$$dE = 0,57dMO - 0,068$$

in cui:

dE= digeribilità dell'energia in funzione della digeribilità della sostanza organica

dMO= digeribilità della sostanza organica

L'energia netta (EN) per la produzione di latte (ENEL) e per la produzione di carne (ENEV) viene poi calcolata semplicemente moltiplicando l'EM per i coefficienti relativi alle diverse produzioni (kl, km, kf, Kmf):

$$kl = 0,60 + 0,24(q - 0,57)$$

$$Km = 0,287q + 0,554$$

$$Kf = 0,78q + 0,006$$

$$Kmf = (km * kf * 1,5) / (kf + 0,5)$$

$$ENL = EM * kl$$

$$ENEV = EM * kmf$$

In cui: kl = per la lattazione e l'ingrasso ; km = per il mantenimento; kf = per l'ingrasso ; kmf = per il mantenimento e la produzione di carne; $q = EM / EB$ ed è la concentrazione in energia metabolizzabile dell'alimento.

Infine sono determinate le UFL e UFC considerando che la prima misura rappresenta "la quantità di energia netta apportata da 1 kg di orzo di riferimento alle bovine in lattazione e fissata nel latte prodotto o nelle riserve corporee" mentre la UFV è definita come "la quantità di energia netta apportata da 1 kg di orzo di riferimento a bovini all'ingrasso alimentati ad un livello di produzione *pari a livello nutritivo 1,5*". In queste condizioni 1 UFL vale 1700 kcal di EN e 1 UFV vale 1820 kcal di EN.

Per le proteine , l'INRA (1988) propone un metodo basato sul valore di proteina indigeribile intestinale o PDI che rappresenta la quantità di amminoacidi che possono essere effettivamente digeriti e assorbiti dall'animale nel tratto post-ruminale e quindi possono essere usati per soddisfare i fabbisogni del metabolismo proteico.

Un ulteriore sistema *Cornell net carbohydrate and proteine system* è stato messo a punto sulla base dei vari metodi adottati precedentemente e considera l'aspetto energetico e quello della qualità proteica degli alimenti. Rispetto agli altri sistemi il Cornell suddivide i carboidrati e le proteine a seconda della loro degradabilità ruminale:

Per gli zuccheri avremo quattro classi:

- zuccheri
- amido
- porzione degradabile della parete cellulare
- carboidrati strutturali non degradabili (lignina)

Le sostanze azotate invece vengono suddivise in cinque classi:

- frazione costituita da azoto non proteico
- proteine immediatamente solubili
- proteine mediamente degradabili
- proteine scarsamente degradabili
- proteine non degradabili

A partire dai dati già riportati in apposite tabelle vengono ricavate le quote degradabili e digeribili di ogni frazione di carboidrati e proteine. Vengono aggiunti i grassi considerati digeribili al 95 % e poi i principi nutritivi di origine microbica digeribili nell'intestino che variano in funzione di una serie di fattori quali: fabbisogno energetico di mantenimento dei batteri, presenza di fibra neutro detersa nel foraggio, disponibilità di peptici e amminoacidi, attività dei protozoi e altre.

Per il calcolo delle sostanze nutritive digeribili Cornell partendo dal metodo TDN stima le varie frazioni in maniera più dettagliata:

$$TDN = CHD + PGD + 2,25 EED$$

Dove:

$$\text{CHD} = \text{CHA} - \text{CHF} - 0,05 \text{ CHB.}$$

I carboidrati digeribili (CHD) ottenuti da carboidrati alimentari (CHA) diminuiti dei carboidrati ingeriti presenti nelle feci (CHF) e del 5 % dei carboidrati della massa batterica (CHB).

$$\text{PGD} = \text{PGA} - \text{PGF} - \text{PPGPCB.}$$

Le “sostanze azotate digeribili” (PGD) sono ottenute dalla proteina grezza alimentare (PGA) diminuita della proteina grezza fetale (PGF) e della proteina grezza della parete cellulare batterica considerata indigeribile (PGPCB).

$$\text{EED} = \text{EEA} - \text{EEF} - 0,05 \text{ EEB}$$

I “grassi digeribili”(EED) sono ottenuti dall’estratto etereo alimentare (EEA) meno l’estratto secco fecale (EEF) e diminuito del 5 % dell’estratto etereo della massa batterica (EEB), considerati digeribili per il 95 %.

Con questa equazione si ottiene il contenuto in g/kg di TDN ovvero il contenuto di energia metabolizzabile di un determinato alimento.

Valore Proteico

L’apporto di proteine con gli alimenti è finalizzato a fornire agli animali amminoacidi per le sintesi proteiche ed i sistemi proposti si basano sulla misura o la stima della qualità e quantità degli amminoacidi assorbiti e dell’efficienza della loro utilizzazione a livello metabolico quando vengono utilizzati come materiale per costruire l’anabolismo proteico. In ogni caso, così come il contenuto di energia lorda non è sufficiente a dare un’informazione corretta del valore energetico alimentare, altrettanto si verifica per la proteina grezza ed è necessario determinare la proteina digeribile o quella ritenuta (Antongiovanni et al., 2002).

Per i monogastrici i metodi di stima del valore biologico possono basarsi su due sistemi: bilanci accurati dell’azoto (entrate e uscite di N) o esperienze di accrescimento eseguite direttamente sugli animali. Tuttavia sono disponibili equazioni basate sul contenuto di amminoacidi essenziali in comparazione con le proteine dell’uovo o del contenuto di amminoacidi più frequentemente limitanti.

Nel caso dei ruminanti la conoscenza del valore proteico degli alimenti si basa sulla stima della quantità di proteine digeribili nell'intestino che essi sono in grado di apportare sia direttamente come proteina by pass, sia indirettamente come proteina microbica. L'INRA (1988) esprime il valore proteico come proteina digeribile intestinale (PDI) che rappresenta la quantità di amminoacidi che possono essere effettivamente digeriti dall'animale nel tratto post ruminale. La PDI è costituita dalla somma della proteina alimentare by pass e di quella microbica (PDIA). La PDIA è la quantità di proteina grezza dell'alimento per la frazione non degradata nel rumine e per la relativa digeribilità ruminale.

La proteina microbica che caratterizza ogni alimento deve tener conto di due valori: della proteina microbica sintetizzabile a partire dal suo contenuto di proteina degradabile (PDIMN); e della proteina microbica sintetizzabile a partire dal suo contenuto di sostanza organica sintetizzabile nel rumine (PDIME).

$$\text{PDMIN} = \text{Prot. g} * \text{quota degradabile} * \text{quota incorporata dai batteri} * \text{quota aminoacidica della proteina batterica} * \text{digeribilità della proteina batterica}$$

$$\text{PDIME} = \text{Sost. organica fermentescibile} * \text{rapporto proteina microbica} * \text{quota aminoacidica della proteina batterica} * \text{digeribilità della proteina batterica}$$

Infine, è possibile esprimere il valore di PDI in due modi:

- PDIN= PDIA + PDIMN

corrispondente alla quantità di proteina digeribile intestinale a partire dal contenuto proteico;

- PDIE= PDIA + PDIME

corrispondente alla quantità di proteina digeribile intestinale a partire dal contenuto di sostanza organica fermentescibile.

2.6 Composizione chimica degli alimenti

La determinazione della composizione chimica rappresenta un passo fondamentale nella valutazione degli alimenti, poiché consente di caratterizzare il contenuto delle varie sostanze nutritive presenti negli stessi. Le analisi chimiche sono utili come base per la stima del valore nutritivo e per verificare eventuali carenze rispetto alle esigenze degli animali. Di seguito sono riportati le molecole ed i composti più importanti nella valutazione delle erbe e degli alimenti in genere.

I glucidi

Sono i composti di gran lunga più diffusi nella biosfera e il loro nome carboidrati, deriva dal fatto che contengono carbonio (C), idrogeno (H) e ossigeno (O); questi ultimi due elementi sono, tranne poche eccezioni, in rapporto 2:1 come nell'acqua.

In relazione alla complessità molecolare, i glucidi possono essere distinti in monosaccaridi, disaccaridi, polisaccaridi. Tra i monosaccaridi più importanti sono compresi il glucosio ed il fruttosio che unendosi formano il disaccaride saccarosio, cioè la forma in cui lo zucchero è trasportato all'interno delle piante. Tra i polisaccaridi rientrano i glucani tra cui l'amido che è la principale fonte di riserva per le piante, e la cellulosa, che costituisce il componente principale delle pareti cellulari rigide e dei tessuti fibrosi e legnosi dei vegetali.

Dal punto di vista funzionale la fibra può essere divisa in fibra solubile (pectine, gomme, mucillagini, β -glucani e altri colloidali) e fibra insolubile (lignina, cellulosa ed emicellulose). Tale classificazione è utile dal punto di vista nutrizionale, poiché i diversi effetti fisiologici della fibra sull'intestino dipendono dalla relativa solubilità.

In tabella 5 sono riportati i diversi polimeri presenti in gruppi di alimenti destinati agli animali.

Tabella 5 Principali polimeri della fibra alimentare dei vegetali (Schiavone, 2008)

Gruppo di alimenti	Polimeri presenti
Leguminose	Cellulosa, pectine, xiloglucani, galattomannani
Cereali	Cellulosa, Arabinoxilani, arabinosilani, B-glucani, lignina
Foraggi	Cellulose, emicellulose, pectine, lignina

I carboidrati sono generalmente suddivisi in due categorie: carboidrati di riserva e solubili (amido, zuccheri,...) e carboidrati strutturali (cioè i costituenti delle pareti cellulari). Nei vegetali i carboidrati strutturali sono i maggiori costituenti delle pareti cellulari e svolgono una funzione «plastica», cioè di costituzione dei tessuti e della struttura dell'organismo.

Il concetto di fibra grezza definisce la porzione di vegetale residua dopo estrazione acida e alcalina, ma questo tipo di determinazione consente solo una approssimata stima dei carboidrati strutturali dei vegetali in quanto sottostima il contenuto di emicellulose e di lignina che vanno, invece, a sovrastimare gli estrattivi inazotati (Bittante et al., 1990).

Una migliore caratterizzazione del contenuto in carboidrati strutturali è quella suggerita da Van Soest che prevede la determinazione delle seguenti frazioni fibrose:

- fibra neutro detersa: emicellulosa, cellulosa, lignina, ceneri insolubili in ambiente acido (silice).
- fibra acido detersa: cellulosa, lignina, ceneri insolubili in ambiente acido (silice).
- lignina.

Negli animali domestici il ruolo nutrizionale della fibra dipende sia dalla diversa composizione delle frazioni fibrose sia dalla capacità di fermentazione delle porzioni del tratto digestivo della singola specie animale considerata. Infatti, mentre per gli animali poligastrici i carboidrati strutturali indigeribili da parte degli enzimi endogeni sono una importante fonte di energia poiché possono essere digeriti nel rumine, per i monogastrici la loro digestione e quindi utilizzazione ai fini energetici dipende dalla presenza di microflora nei vari tratti dell'apparato digerente (colon e cieco). Tale presenza di popolazioni batteriche consentono la digestione alloenzimatica della fibra con produzione di energia sotto forma di acidi grassi volatili necessaria agli erbivori. Negli altri animali monogastrici, la fibra non ha alcun ruolo energetico ma svolge comunque un importante ruolo probiotico: migliora l'ambiente intestinale essendo il substrato per i microrganismi (soprattutto batteri lattici che proteggono la mucosa intestinale riducendo la presenza di ceppi patogeni per competizione) migliorando così lo stato di salute generale. Gli altri ruoli svolti dalla fibra sono:

- aumento della viscosità del contenuto dell'intestino. Tale effetto è legato alla componente solubile della fibra; principalmente pectine, gomme, e β -glucani che possiedono un'elevata capacità di ritenzione idrica. L'aumento della viscosità del contenuto intestinale ostacola l'interazione tra gli enzimi digestivi e i substrati alimentari che assumono l'aspetto di gel determinando un rallentamento dello svuotamento gastrico e, di conseguenza, la riduzione della quantità di alimento che l'animale assume volontariamente (senso di sazietà). Mentre tali componenti vengono digerite dagli animali poligastrici, per i monogastrici la loro digeribilità dipende dalla specie e quando rimangono indigerite possono avere un effetto negativo determinando un aumento di volume delle defezioni. La fibra insolubile invece fa aumentare la velocità di transito nel tratto intestinale (peristalsi) senza comportare un aumento della viscosità. In questo modo, l'aumento di volume del contenuto intestinale determina la riduzione del suo tempo di permanenza in intestino, con conseguente riduzione della digeribilità dell'alimento.
- Attività legante. Alcune componenti della fibra, come le pectine, posseggono un'elevata densità di cariche elettriche, per cui interagiscono con i cationi di origine alimentare (esempio manganese, ferro, zinco, e rame) riducendone la digeribilità. Alcuni polisaccaridi non amidacei sono dotati di una struttura tridimensionale che facilita la chelazione di ioni e la formazione di ponti ionici, tali molecole possono legare anche le micelle e gli acidi biliari e tale meccanismo sarebbe responsabile della riduzione della digeribilità dei lipidi indotta dalla fibra alimentare.
- Interazione con la flora intestinale. La quantità ed il tipo di fibra alimentare possono modificare la composizione della microflora che alberga nel rumine, nel cieco o in altre parti dell'intestino. Da ciò derivano molti dei problemi digestivi degli animali domestici erbivori dovuti a cambi immediati e repentini di alimentazione.

La lignina

Sotto il profilo chimico la lignina non è una sostanza ben identificata ma raggruppa una serie di composti aromatici molto simili tra loro che sono polimeri derivanti del fenilpropano. La lignina si trova nel mondo vegetale in stretta congiunzione con la cellulosa e le emicellulose delle pareti cellulari. Infatti le fibre di cellulosa sono collegate da una matrice di emicellulosa che con l'aumentare della maturità della pianta si legano con una quantità crescente di lignina che incrosta in tal modo le pareti cellulari aumentandone la rigidità. La lignina è presente in piante legnose in grandi quantità mentre è presente in quantità progressivamente decrescenti

passando dagli steli alle foglie e dalle piante mature alle piante giovani nelle erbe. Dal punto di vista nutrizionale la lignina è resistente all'attacco degli enzimi dei succhi digestivi (monogastrici), ma anche a quelli prodotti dai batteri celluloso litici ed emicellulosolitici del rumine. La lignina svolge quindi un'azione protettiva delle cellule vegetali diminuendo non solo la digestione delle pareti (cellulosa ed emicellulosa) ma anche il contenuto cellulare (carboidrati di riserva, zuccheri e proteine) (Bittante et al., 1990).

I lipidi

Dal punto di vista chimico, con il termine lipidi si indicano delle sostanze organiche ternarie, povere di ossigeno, costituite da esteri di acidi grassi con alcol. In base al tipo di alcol coinvolto, i lipidi semplici si suddividono in vari gruppi: i gliceridi (o grassi propriamente detti; gli acidi grassi sono combinati col glicerolo); steroidi (quando gli acidi grassi esterificano steroli); ceridi (quando gli acidi grassi sono combinati con alcol alifatici ad elevato numero di atomi di carbonio. I lipidi complessi comprendono composti nella cui costituzione entrano, oltre all'alcol e agli acidi grassi, molecole di altra natura e sono componenti essenziali delle membrane biologiche. Tra i lipidi complessi presenti nelle piante ricordiamo i fosfolipidi, i glicolipidi e sfingolipidi (Longo, 1987). Altri composti lipidici importanti sono la cutina e la suberina: polimeri insolubili dei lipidi che formano le matrici in cui sono incluse le cere, composti lipidici a lunga catena variatamente diffuse nel regno vegetale ed animale con funzione principalmente protettiva che non rivestono valore nutrizionale perché sono molto difficilmente digeribili. La suberina oltre ad essere il componente fondamentale delle cellule del sughero si trova anche nelle pareti delle cellule della guaina del fascio delle poacee (Raven et al., 1997).

Infine, tra i lipidi necessario ricordare i terpeni, costituiti da una serie di unità isopreniche unite in catena o anelli, essi si trovano nel regno vegetale come responsabili di alcuni odori e sapori caratteristici di alcuni alimenti essendo componenti di oli di varie essenze (limonene, canforene, pinene), nei pigmenti (clorofille e carotenoidi) e in alcune vitamine.

I lipidi alimentari forniscono energia, acidi grassi essenziali, vitamine liposolubili e pigmenti. Si trovano in tutti gli organismi viventi dove svolgono importanti funzioni di riserva di energia (nei tessuti adiposi degli animali e nei semi oleosi dei vegetali); per i mammiferi i lipidi rappresentano la fonte energetica più concentrata (il loro contenuto calorico è pari a circa 2,5 volte quello dei glucidi) e vengono digeriti e metabolizzati con un'elevata efficienza.

Le proteine

Le proteine sono polimeri costituiti da un numero di monomeri detti aminoacidi, questi sono formati da idrogeno, ossigeno, carbonio, azoto e zolfo. Nel regno vegetale le proteine non assicurano funzioni strutturali che sono sostenute dai carboidrati, ma hanno principalmente un'azione metabolica. Gli alimenti di origine vegetale, quindi, apportano generalmente meno proteine di quelli di origine animale, anche se i semi di alcune leguminose ne contengono un quantitativo elevato (20-50%) come riserva per la crescita dell'embrione. Nelle piante, le proteine sono importanti per la crescita e germinazione del seme: nei semi di orzo e di altri cereali formano uno speciale strato esterno di cellule dell'endosperma detto "aleurone", essenziale per lo sviluppo dell'embrione quando riprende la crescita durante la germinazione del seme (Raven et al., 1997).

Negli animali gli aminoacidi ottenuti dalle proteine alimentari vengono utilizzati dall'animale per assolvere diverse funzioni. Gli aminoacidi sono i costituenti principali dei tessuti strutturali e di protezione (piume, peli, pelle, matrice ossea e legamenti), così come dei tessuti

molli (organi e muscoli). Le proteine infatti rappresentano dal 15 al 25% circa del corpo animale e sono i costituenti fondamentali del tessuto muscolare; rappresentando le sostanze con funzione. Esse sono però contenute in tutte le cellule dell'organismo, di cui assicurano varie funzioni vitali; fanno parte delle molecole degli enzimi e di alcuni ormoni, la cui azione è indispensabile per mantenere la regolazione dell'equilibrio metabolico dell'animale, e assicurano anche il mantenimento delle difese immunitarie (Bittante et al., 1990). Svolgono inoltre la funzione di acceleratori di reazioni chimiche (catalizzatori), di trasportatori di molecole attraverso le membrane cellulari e di componenti strutturali delle cellule come i microfilamenti e i microtubuli (Longo, 1987).

In natura sono stati identificati più di 200 aminoacidi, ma si ritiene che solamente 25 entrino a far parte delle proteine e di questi circa 20 sono quelli più diffusi, le possibilità di combinazioni fra i vari aminoacidi in termine di ordine nella sequenza e di lunghezza della catena sono praticamente infinite. Solamente gli organismi vegetali sono in grado di sintetizzare aminoacidi ex novo, cioè a partire da azoto in forma inorganica (nitrati, ammoniaca) e da glucidi (chetoacidi). Gli organismi animali non possiedono questa capacità e quindi per sintetizzare le proprie proteine devono necessariamente utilizzare gli aminoacidi preformati che vengono dalla digestione delle proteine della dieta.

Una eccezione è rappresentata dai ruminanti, nei quali la popolazione batterica ruminale è in grado di sintetizzare ex novo gli aminoacidi che entrano nella propria costituzione cellulare. Le spoglie batteriche che passano nell'abomaso e successivamente nell'intestino diventano quindi una fonte di proteine per il ruminante.

Poiché molte proteine di ogni organismo sono specifiche per la sequenza aminoacidica, anche gli animali in produzione zootecnica necessitano di aminoacidi in un ben preciso rapporto di tipo e quantità per sintetizzare le proprie proteine corporee. Normalmente questo rapporto non è rispettato nelle proteine digeribili fornite con la razione, ma l'organismo possiede la capacità di utilizzare gli aminoacidi alimentari presenti in eccesso per trasformarli in quelli presenti in quantità insufficienti. Questa possibilità, però, non riguarda tutti gli aminoacidi, poiché ne esistono alcuni che non possono in alcun modo essere sintetizzati dall'animale. Essi sono denominati aminoacidi essenziali o indispensabili e devono essere necessariamente apportati con la dieta nella quantità necessaria.

Le vitamine

Le vitamine, "ammine della vita" sono molecole presenti in quantità molto basse nel corpo ma necessarie per assicurare l'equilibrio delle funzioni metaboliche e quindi dei processi di assorbimento e riproduzione. Non tutte le vitamine vengono assunte nella loro forma biologicamente utilizzabile ma piuttosto come precursori che vanno sotto il nome di provitamine. Una volta assunti, tali composti vengono trasformati da specifici enzimi metabolici nella loro forma attiva, al fine di renderli utilizzabili. Le vitamine presentano strutture chimiche molto diverse tra loro per cui, al momento, l'unica classificazione operativamente valida è quella che le distingue in due gruppi ovvero liposolubili (vit. A, E, D, K) e idrosolubili (vit. del gruppo B e vitamina C) a seconda che siano solubili negli oli o nei solventi organici o nell'acqua. Questi due gruppi differiscono anche nelle funzioni di base.

Le vitamine, in particolare quelle solubili in ambiente acquoso, regolano il metabolismo cellulare e tissutale attraverso l'attività degli enzimi di cui sono parte

integrante trasformandosi nella parte coniugata detta coenzimatica; non sono apportatrici di energia metabolica né entrano a far parte dei costituenti strutturali dell'organismo.

In generale le vitamine sono presenti soprattutto negli alimenti freschi poiché la trasformazione e o la conservazione comportano azioni fisiche e chimiche quali ad esempio l'ossidazione ed il riscaldamento che le inattivano.

I costituenti minerali

Gli organismi animali contengono piccole quantità di minerali (ceneri) che in base al livello in cui sono presenti possono essere distinti in macroelementi (Ca, P, Na, Cl, Mg, K) e microelementi (Fe, Cu, Zn, Co, Mn, Se, I). Anche se per alcuni di questi ancora non è conosciuta l'effettiva indispensabilità per la vita, alcuni elementi sono particolarmente importanti sotto l'aspetto plastico poiché entrano nella costituzione di vari organi e tessuti. Il calcio ed il fosforo ad esempio sono i componenti principali del tessuto osseo, mentre lo zolfo entra nella molecola delle proteine. Praticamente tutti i minerali svolgono funzione catalitica sono cioè necessari per reazioni legate alla biochimica cellulare. In sintesi, “gli elementi minerali possono essere parte della molecola dei coenzimi, dei pigmenti respiratori (emoglobina), di vitamine (Vit. B12) sono, inoltre, essenziali nel regolare la pressione osmotica e l'equilibrio acido base dei fluidi corporei e nel controllare la permeabilità della membrana cellulare e l'eccitabilità neuro-muscolare” (Bittante et al., 1990). Inoltre esiste una interdipendenza tra i vari minerali e la necessità di rispetto di determinati rapporti fra alcuni di essi.

2.6.1 Composizione chimica dell'erba

L'erba è caratterizzata da elevata voluminosità (ingombro) per effetto dell'elevato tenore in acqua che risulta molto alto (750-850 g / kg) nell'erba giovane e decade a circa 650 g / kg con la maturazione della pianta. Tuttavia la condizione climatica è in grado di influenzare notevolmente il contenuto di umidità. La composizione della sostanza secca dell'erba dipende dalle proporzioni esistenti fra le pareti (emicellulosa, cellulosa e lignina) e il contenuto cellulare (McDonald et al., 2011).

Il tenore di proteine grezze può variare da un minimo di 30 g / kg in erba a stadi fenologici avanzati a più di 300 g / kg in erbe giovani, tali valori però possono essere condizionati dalla fertilizzazione effettuata nel terreno. Inoltre, nell'erba le proteine rappresentano i principali composti azotati. Mentre le proteine totali diminuiscono con la maturazione, le proporzioni aminoacidiche non cambiano notevolmente. In effetti la composizione aminoacidica varia poco tra specie erbacee: ciò perché quasi la metà della proteina cellulare contenuta nelle erbe si trova sotto forma di un singolo enzima (ribosio 1,5-difosfato carbossilasi) che svolge un ruolo importante nella fissazione fotosintetica dell'anidride carbonica (McDonald et al., 2011). Le proteine dell'erba sono particolarmente ricche in arginina e contengono anche quantità considerevoli di acido glutammico e lisina (McDonald et al., 2011). Questi aminoacidi hanno valori biologici elevati soprattutto in riferimento alla crescita degli animali rispetto a quelli contenuti nei semi. Tuttavia, questo fattore è di scarsa importanza per ruminanti a causa del metabolismo degli aminoacidi nel rumine (McDonald et al., 2011). Al contrario, la composizione aminoacidica di foraggi è chiaramente importante quando gli alimenti sono utilizzati come fonti di proteine per i monogastrici.

Per ruminanti, le più importanti caratteristiche delle proteine contenute nei foraggi sono loro degradabilità ruminale e la loro complessiva digeribilità: nelle erbe a stadi giovanili, entrambe le misure sono generalmente molto alte, mentre declinano con la maturazione della pianta parallelamente alla diminuzione del contenuto proteico totale (McDonald et al., 2011). Inoltre, nelle erbe a stadi fenologici avanzati, una parte significativa della proteina può risultare indigeribile in quanto legata alla componente fibrosa (azoto insolubile acido detergente, ADIN) (McDonald et al., 2011).

Anche, la frazione azotata non proteica varia in base allo stadio fenologico della pianta: generalmente, in condizioni di crescita favorevoli il tenore di azoto non proteico e il valore totale di azoto sono alti, mentre nelle piante vecchie il contenuto di entrambe diminuisce (McDonald et al., 2011). I componenti principali della frazione di azoto non proteico sono amminoacidi e amidi come la glutammina e asparagina, interessati nella sintesi delle proteine; ma possono essere presenti anche nitrati tossici per gli animali al pascolo (McDonald et al., 2011).

I carboidrati idrosolubili dell'erba comprendono i fruttosani e gli zuccheri glucosio, fruttosio, saccarosio, raffinoso e stachioso. La loro concentrazione è molto variabile: oscillano da 40g/kg ss in alcune varietà di erba mazzolina fino a 300g/kg ss in varietà di *Lolium Italicum*. Il contenuto di carboidrati solubili è più alto negli steli che nelle foglie delle piante erbacee e generalmente tenori maggiori si osservano appena prima della fioritura. Il contenuto di cellulosa è mediamente dell'ordine di 20-30 g/kg di ss e quello di emicellulose può variare da 100 a 300 g/kg di ss. Entrambi i componenti aumentano con l'invecchiare delle piante. Lo stesso comportamento lo assume la componente lignina. La lignina nelle erbe, infatti si trova in stretta congiunzione con la cellulosa e le emicellulose delle pareti cellulari che con l'aumentare della maturità della pianta si legano con una quantità crescente di lignina che incrosta in tal modo le pareti cellulari aumentandone la rigidità. La lignina è presente in quantità progressivamente decrescenti passando dagli steli alle foglie e dalle piante mature alle piante giovani nelle erbe.

Il contenuto di lipidi di erbe inclusi trigliceridi, glicolipidi, cere, fosfolipidi e steroli è sempre modesto e raramente supera 60g /kg SS (McDonald et al., 2011). Necessario sottolineare che i lipidi dell'erba hanno una concentrazione molto caratteristica con concentrazione elevata di acidi polinsaturi della famiglia degli n-3 e n-6, (Pugliese et al., 2007). Il più abbondante fra gli acidi grassi è l'acido alfa linolenico (18:3n-3), che rappresenta circa il 50% del totale, ed è importante nella nutrizione degli animali perché è il precursore degli acidi polinsaturi a catena lunga, considerati positivamente per gli effetti benefici sulla salute umana (McDonald et al., 2011).

L'erba fresca contiene una quantità molto elevata di alfa-tocoferoli (vitamine E), che vi si trova in forma libera e pertanto più facilmente assorbibile rispetto alla forma esterificata che normalmente viene utilizzata nelle integrazioni vitaminiche dei mangimi. L'erba fresca del pascolo apporta elevati quantitativi di betacarotene, più che sufficienti a soddisfare integralmente i fabbisogni di betacarotene e vitamina A degli animali. Inoltre vi sono quantitativi più che sufficienti di provitamina D e di vitamina E, oltre che a molte vitamine idrosolubili. Secondo Bittante et al. (1985), per questo motivo quando si pratica l'alimentazione verde non si rende necessaria alcuna integrazione vitaminica.

Inoltre, l'erba verde è ricca di β -carotene, un precursore della vitamina A che nella sostanza secca di un'erba giovane può arrivare fino a 550 mg / kg (McDonald et al., 2011). La

maggior parte delle colture da foraggio verde sono buone fonti di vitamina B, soprattutto riboflavina (McDonald et al., 2011).

2.7 Effetto del pascolo di erba sulle produzioni degli animali

L'allevamento degli animali al pascolo si riflette vantaggiosamente sui prodotti animali derivanti sia come diretta conseguenza delle condizioni di allevamento e del benessere animale sia per il passaggio di molecole funzionali e/o nutraceutiche. L'erba del pascolo risulta essere la fonte primaria di PUFA della serie omega-3 (o n-3) in quanto le piante hanno la capacità di sintetizzare l'acido linolenico da cui traggono origine gli EPA (acido eicosapentaenoico) e i DHA (acido docosaesaenoico) (Secchiari et al., 2014). Tra gli "acidi grassi essenziali" (EFA, essential fatty acids) i polinsaturi, l'*acido linoleico* (capostipite degli omega-6) e l'*acido alfa-linolenico* (capostipite degli omega-3), sono considerati acidi grassi essenziali in senso ristretto intendendo che devono essere necessariamente assunti con l'alimentazione, perché il corpo umano non è in grado di produrli (Dobrynieski, 2007). I foraggi verdi freschi, e in generale i frutti del bosco, presentano un'elevata quantità di acido linolenico (18:3n-3), e se assunti con la dieta dagli animali ciò si traduce in una più alta concentrazione di acidi grassi PUFA della serie n-3 nei lipidi dei prodotti animali (latte o carne). L'interesse destato per gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) della serie omega-3, in particolare di (DHA) e (EPA) è collegato al ruolo alla prevenzione di alcune malattie: cardiovascolari, tumorali, ma anche ipertensione e artrite (Connor, 2000). Gli omega-3, inoltre, da una parte modulano la risposta infiammatoria, risultando di valido aiuto in numerose patologie (disturbi articolari, asma, sindrome del colon irritabile); dall'altra giocano un ruolo importante nelle funzioni visive e cognitive, soprattutto nello sviluppo e nel mantenimento del tessuto cerebrale.

L'erba dei pascoli o comunque l'erba fresca presentano, quindi, una maggior concentrazione di acido α -linolenico, rispetto ai concentrati comunemente impiegati per l'alimentazione dei ruminanti, e ciò si traduce in una più alta concentrazione in acidi grassi PUFA-n3 nei lipidi intramuscolari (fosfolipidi e trigliceridi) sia in termini di ALA che di EPA e DHA, (Secchiari et al., 2014). Secondo Secchiari et al. (2014) la maggiore concentrazione di acidi grassi della serie omega3 riscontrata nella da bovini sottoposti a una dieta ricca di foraggi nel finissaggio può essere dovuta al minore contenuto in grasso intramuscolare; inoltre i PUFA n3 vanno a caratterizzare le membrane fosfolipidiche presenti proporzionalmente in maggiore quantità nelle carni magre. Il contenuto in acidi grassi dei lipidi intramuscolari sembra essere influenzato dalla percentuale di foraggio verde sia esso pascolato dall'animale o somministrato direttamente, ma anche dalla durata della somministrazione influenzano il contenuto in acidi grassi dei lipidi intramuscolari. L'alimentazione al pascolo o con foraggi freschi ricchi di leguminose in particolare il trifoglio nella fase di finissaggio determinano una riduzione significativa in SFA per un minor apporto di C16:0 e C18:0 con un aumento del rapporto PUFA/SFA e riduzione di quello n6/n3 con un aumento del contenuto in PUFA n-3 ed un aumento del contenuto in CLA (Secchiari et al., 2014). Lee et al. (2004) hanno associato l'incremento delle quantità di PUFA nel grasso intramuscolare di animali alimentati con trifoglio verde con la riduzione nella bioidrogenazione ruminale di PUFA determinata dalla attività della polifeossidasi (PPO) che agirebbero come agenti protettori dei lipidi. Nella specie ovina appare interessante la variabilità legata alla composizione floristica e allo stadio fenologico dei pascoli: maggiori quantità di PUFA sono stati ritrovati nella carne di agnelli ingrassati in pascoli di montagna rispetto a quelli ingrassati in pascoli di pianura. Questo effetto è stato definito "Alpin factor" ed è diretta conseguenza delle essenze e del

grado di maturazione in cui vengono assunte dagli animali al pascolo (Scollan, 2006). Negli ambienti mediterranei in cui la maggior parte degli agnelli vengono alimentati con latte materno, la composizione acidica della frazione lipidica risente in maniera rilevante della composizione della dieta delle madri. Diversi studi hanno messo in evidenza che la carne di agnelli allattati da pecore allevate al pascolo presenta una quota più elevata di PUFA n3 rispetto a quelli allattati da madri alimentate con foraggi conservati (Mazzone et al., 2010).

Anche nei monogastrici, l'allevamento estensivo determina modificazioni della composizione acidica della frazione lipidica. Tuttavia nella specie suina è necessario distinguere all'interno dell'allevamento all'aperto tra gli effetti dell'utilizzo di frutti del bosco quali ghiande e castagne (realtà mediterranea), di erba (realtà nordeuropea), di maggiori standard di benessere e della possibilità di movimento. Le ghiande determinano un maggior contenuto in acido oleico nelle carni (Cava et al., 1997; Narvaez Rivas, 2008); mentre, ghiande e castagne (Pugliese et al., 2006) ma anche ghiande e erba (Rey et al. 2006) permettono di avere nel grasso sottocutaneo un maggior contenuto sia in MUFA sia in PUFA. L'allevamento all'aperto determina comunque una minor deposizione lipidica grazie al maggior consumo energetico, ciò permette un contenuto di acidi grassi saturi più basso e un livelli più alti di PUFA nella carne di animali allevati outdoor rispetto a quelli indoor (Nilzèn et al., 2001).

Nelle specie avicole, in particolare nel pollo, l'allevamento all'aperto non sembra modificare la composizione acidica delle carni probabilmente a causa dei bassi livelli d'ingestione di erba al pascolo (Secchiari et al., 2014) ad eccezione dell'EPA nel pascolo primaverile.

Le caratteristiche della razione ed in particolare il foraggio fresco influiscono notevolmente sul profilo degli acidi grassi del latte. In effetti, le tecniche di allevamento che fanno ampio utilizzo dei pascoli (sistemi estensivi, biologici, monticazione estiva, ecc.) consentono di ottenere un latte con rapporti più favorevoli per la salute umana fra acidi grassi saturi e insaturi soprattutto in riferimento ai PUFA e al contenuto in CLA (Secchiari et al., 2014). L'erba fresca contiene una percentual bassa di lipidi sottoforma di glicolipidi e fosfolipidi e di questi solo una parte è rappresentata da acidi grassi (20-60%). Una dieta basata sul pascolamento modifica sostanzialmente il profilo acidico rispetto ad una dieta unifeed con assunzioni elevate di concentrati (Cabiddu et al., 2005). In particolare tale latte, nei bovini è caratterizzato da un abbassamento della percentuale di acidi grassi insaturi a media e lunga catena e da un aumento della frazione insatura (Kelly et al., 1998).

Un elevato o esclusivo consumo di foraggi favorisce la crescita microbica dei batteri celulosolitici che con una velocità diversa in base al grado di lignificazione della fibra provvedono ad attaccare la componente lipidica e favorire l'idrogenazione degli acidi grassi insaturi presenti (Secchiari et al., 2014). L'acido alfa-linolenico, principale acido grasso dell'erba fresca, viene idrogenato nel rumine ad acido stearico. La bioidrogenazione non è mai completa e nel latte si trasferisce una quota di α LNA, ed alcuni suoi intermedi ovvero acido vaccelenico (VNA) e acido vaccenico (VA); inoltre per effetto della destaurazione dell'SA nel tessuto mammario aumenta l'acido oleico (Secchiari et al., 2014). Anche il contenuto in CLA aumenta quando le vacche sono alimentate al pascolo con erba fresca (Chilliard et al., 2003; Lee et al., 2002).

Il foraggio essiccato rispetto all'erba fresca ha un contenuto minore di PUFA a causa dei fenomeni ossidativi che iniziano con il taglio in campo, procedono durante l'essiccazione e l'affienamento durante il quale vi è la possibilità di perdere quantità variabili di foglie che

rappresentano la parte della pianta maggiormente ricca in acidi grassi (Secchiari et al., 2014). Lo stadio vegetativo dell'erba sembra influenzare la qualità del latte ed in particolare il contenuto in CLA che aumenta nel latte di animali alimentati con foraggi tagliati precocemente e appartenenti ai primi tagli (Chouinard et al., 1998). Inoltre, alcuni studi sulla specie ovina riportano che il contenuto in CLA nel latte è più elevato nella stagione primaverile ed in autunno, mentre è più basso durante le altre stagioni (Mele et al., 2009). Alcuni lavori presenti in letteratura hanno messo in evidenza che le specie floristiche e l'altitudine dei pascoli possono influenzare la presenza di PUFA nel latte. Sono state individuate alcune specie correlate positivamente alla presenza di acidi grassi saturi (*Veronica chamaedrys*, *Festuca pratensis*, *Poa trivialis*, *Phleum pratense*, *Holcus lanatus*, *Ranunculus acris friesianus*, *Ranunculus ficaria*) mentre altre specie favoriscono la presenza di CLA e PUFA (*Leodontus hispidus*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium pratense*) (Collomb et al., 2002). Anche la presenza di sostanze polifenoliche come i tannini di cui sono ricche alcune leguminose tra cui la sulla, sono in grado di modificare la qualità della frazione lipidica complessando la proteina alimentare a livello ruminale ed interferendo con le bioidrogenazioni ruminali (Secchiari et al., 2014).

CAPITOLO 3

METODOLOGIE INNOVATIVE PER LA VALUTAZIONE CHIMICO NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI

3.1 Introduzione e storia della spettroscopia nel vicino infrarosso

L'energia NIR nasce nel 1800 con gli esperimenti di Herschel, ma nei due secoli successivi resta solo un approfondimento di conoscenza dello spettro elettromagnetico. Il primo spettro nel vicino infrarosso venne registrato nel 1800 quando Herschel effettuò le misure sul calore di emissione solare al di là della porzione "rossa" del visibile; separò lo spettro elettromagnetico con un prisma e trovò che la temperatura aumentava in modo significativo verso e oltre il rosso, nella regione che ora è chiamata vicino infrarosso. Nelle prime applicazioni, il NIRS è stato utilizzato solo come unità aggiuntiva per altri dispositivi ottici che hanno usato spettri relativi ad altre lunghezze d'onda, come raggi ultravioletti (UV), visibile (Vis), o medio infrarosso (MIR). Nel 1881 Abney e Festing valutarono, mediante strumenti fotografici, gli spettri di alcuni liquidi organici nel vicino infrarosso tra 700 e 1200 nm, riconoscendo l'importanza dei legami che coinvolgono l'idrogeno nella formazione di assorbimenti in tale regione spettrale.

Sebbene le origini della spettroscopia nel vicino infrarosso risiedano in Europa, fino al 1945 la maggior parte degli sviluppi successivi nella pratica si ebbero negli Stati Uniti d'America. In particolare, la tecnologia ottica avanzò, quando si passò dall'utilizzo di "registratori fotografici" degli spettri e di galvanometri a tamburo, all'utilizzo di diodi, di monocromatori acustico-ottici e di fibre ottiche, attraverso filtri reticolari a diffrazione olografica e filtri ad interferenza. L'impulso per ulteriori progressi nell'utilizzo di tali mezzi venne poi dalla disponibilità commerciale di spettro-computer, il Neotec 6350 Research Composition Analyzer (Landa 1979) e il Technicon InfraAnalyzer 500 (Fearn, 1982).

Il potenziamento della spettroscopia nel vicino infrarosso successivamente seguì i progressi che si ebbero nei diversi settori della tecnologia quali: ottica, elettronica, hardware e software e, soprattutto, chemiometria. Le moderne strumentazioni debbono comunque la loro esistenza soprattutto ad un microprocessore in cui vengono immagazzinate tutte le calibrazioni e che è in grado di convertire i dati spettrali in risultati analitici.

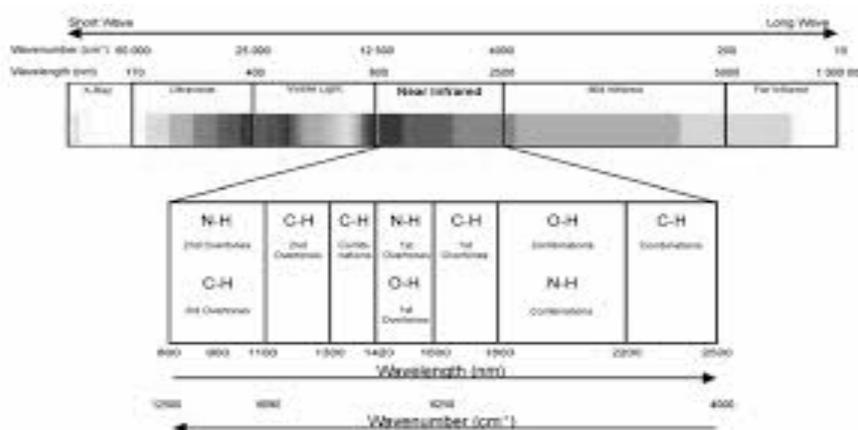
A partire dal 1970 la spettroscopia NIR viene utilizzata a scopo analitico per quantificare in modo rapido umidità, proteine e grasso in diversi cereali e derivati (Sinelli, 2008) tra cui cariossidi di grano, semi di soia e sfarinati. Dagli anni '80 le applicazioni di tipo quantitativo sono notevolmente aumentate, e sono state impiegate sia per rilevare composti presenti in bassa concentrazione (caffèina nel tè, determinazione del numero di perossidi in campioni di oli), sia per la determinazione contemporanea in un prodotto di un insieme di parametri, siano essi chimici o fisici (Sinelli, 2008). Karl Norris fu il primo che riconobbe le potenzialità NIR e introdusse la "moderna spettroscopia NIR" come tecnica per usi industriali (Williams et al., 1988), come metodo valido per il controllo della qualità del prodotto e il monitoraggio del processo per l'analisi nell'industria alimentare. Le applicazioni possibili per la tecnica NIR, vaste e in continuo aumento, possono essere distinte in: quantitative, il cui obiettivo è quello di determinare la concentrazione di un analita in una matrice; qualitative, con fine di classificare i campioni, e tecniche combinate, che utilizzano la tecnica NIR come parte di un

processo più ampio (Sinelli, 2008). Oltre alle tradizionali analisi di tipo quantitativo, si sono sviluppate applicazioni di tipo qualitativo, che hanno come obiettivo la classificazione dei campioni, e l'applicazioni ai processi industriali, con lo scopo di monitorare ciascuna fase di processo (Sinelli, 2008). Recentemente l'interesse e le possibili applicazioni della spettroscopia nel vicino infrarosso sono aumentati grazie al continuo sviluppo delle tecniche chemiometriche e dell'informatica (Sinelli, 2008).

Il crescente interesse della tecnica NIR nel settore agro alimentare è probabilmente un diretto risultato dei suoi maggiori vantaggi rispetto alle metodiche analitiche convenzionali: è, infatti, veloce (per l'acquisizione spettrale del campione sono necessari solo pochi minuti), non è distruttiva (il campione, dopo lettura spettroscopica, può essere riutilizzato), non è invasiva (nel senso che le radiazioni usate hanno contenuto energetico molto basso che non provoca un trasferimento di energia al campione sotto forma di calore). Rispetto alle altre tecniche analitiche inoltre, non necessita di preparazione del campione, vi è la possibilità di ripetere più misure sullo stesso campione ed è possibile la predizione di parametri chimici e fisici da un singolo spettro.

3.2 Principi di spettroscopia

La misura e lo studio di uno spettro è chiamato spettroscopia ("osservazione dello spettro"). In origine uno spettro era la gamma di colori che si osserva quando della luce bianca viene dispersa per mezzo di un prisma. Con la scoperta della natura ondulatoria della luce, il termine spettro venne riferito all'intensità della luce in funzione della lunghezza d'onda o della frequenza. Oggi, il termine spettro è attribuito a un flusso o un'intensità di radiazione elettromagnetica o particelle (atomi, molecole o altro) in funzione della loro energia, lunghezza d'onda, frequenza o massa (Autori vari, 2009). In generale, la spettroscopia si basa sull'interazione tra radiazione elettromagnetica e materia. Lo spettro della radiazione elettromagnetica è composto da diverse zone delimitate da lunghezze d'onda precise: la frazione visibile occupa la parte centrale dello spettro ed ha proprietà intermedie, la frazione ultravioletta e i raggi ionizzanti, caratterizzati da alte frequenze e corte lunghezze d'onda, ed infine la frazione infrarossa e le onde radio, caratterizzate da bassa frequenza ed alte lunghezze d'onda. Lo spettro infrarosso, sia per la strumentazione che per la sua utilizzazione, è comunemente suddiviso, per praticità, in regioni dette *vicino*, *medio* e *lontano* infrarosso, i cui limiti approssimativi sono rispettivamente 0.75 – 2.5 μm ; 2.5 – 50 μm ; 50 – 1000 μm .



Nella zona dello spettro elettromagnetico le energie in gioco determinano una variazione nel moto vibrazionale delle molecole in particolare dei legami in esse presenti. Gli assorbimenti in regioni diverse in base allo stato in cui si trovano le molecole:

- gli assorbimenti degli stati fondamentali cadono nella regione tra 2500 e 15000 nm ($4000-660 \text{ cm}^{-1}$) definita come medio infrarosso MIR;
- gli assorbimenti degli stati vibrazionali con frequenze multiple a quella dello stato fondamentale, sono caratteristici della zona del NIR.

La radiazione elettromagnetica viene utilizzata per indicare la rivelazione e la registrazione di variazioni di energia, individuate come di picchi di risonanza che interessano nuclei, atomi o intere molecole. Lo spettro elettromagnetico (EMS) è formato da fotoni carichi di energia che interagiscono: i fotoni di con molta energia provocano spostamento di elettroni, mentre i fotoni con energia più bassa determinano vibrazioni molecolari (Birth et al., 1987; Murray et al., 1987).

Quando l'energia di una radiazione va incontro a quella di una molecola che sta vibrando, c'è un trasferimento netto di energia che può avvenire solo ed unicamente se il fotone ha una frequenza, e quindi un'energia, uguale a quella necessaria per far passare la molecola dallo stato fondamentale a quello eccitato. La radiazione non trasmette una quantità di energia

continua ma trasmette “pacchetti” di energia quantizzati e può essere vista come un flusso di particelle dette fotoni. Ciò può essere rappresentato come uno spettro ovvero variazione di energia in ordinata e lunghezza d’onda in ascissa.

Se un fotone di energia uguale al dislivello tra le due configurazioni (l’energia più bassa corrisponde alla configurazione più stabile detta “configurazione di base”, il livello successivo corrisponde al primo livello eccitato) colpisce una molecola, l’elettrone che si trova allo stato di base ha una certa probabilità di portarsi allo stato eccitato: in questo caso il fotone è stato assorbito. Dopo un certo tempo, tipicamente di 10^{-8} secondi, l’elettrone ritorna allo stato base ed emette un’energia uguale al salto di energia tra i due livelli.

Una radiazione della frazione infrarossa dello spettro è caratterizzata da una bassa energia; i fotoni

non sono in grado di eccitare la molecola ma possono indurre moti vibrazionali degli elettroni. I fondamentali tipi di vibrazione causati dall’incidenza di una radiazione della frazione infrarossa spettro sono:

- **stretching** (stiramento), ovvero la vibrazione del legame lungo il piano, in conseguenza al quale varia ritmicamente la distanza interatomica e può essere simmetrico o asimmetrico;
- **bending** (deformazione) ovvero un movimento a forbice, caratterizzato da una variazione dell’angolo tra due atomi nel piano e fuori piano. Quando un fascio di radiazioni è fatto passare attraverso una sostanza, l’intensità della radiazione incidente I_0 (maggiore di quella della radiazione emergente I) è assorbita dalle molecole che contengono il campione, diffusa o riflessa dal campione a una lunghezza d’onda diversa. Le lunghezze d’onda caratteristiche di assorbimento sono associate a moti vibrazionali delle molecole.

Conoscendo l’intensità della radiazione incidente e di quella emessa, si può risalire alla frequenza della radiazione che è stata assorbita e quindi al salto energetico a cui è andata incontro la molecola. Infine, sapendo che i salti con un dato livello energetico possono interessare solo certe molecole, si può capire quali molecole costituiscono la materia. Infatti, quando un fotone infrarosso viene assorbito da una molecola, questa passa dal suo stato vibrazionale fondamentale ad uno stato vibrazionale eccitato; l’energia radiante viene assorbita selettivamente in base agli specifici moti vibrazionali dei legami della materia in esame con produzione di un overtone nello spettro (Conzen, 2006).

L’assorbimento o l’emissione di energia da parte della materia è uno dei più importanti marchi d’identificazione forniti dalla natura (Miller, 2001). In questo modo si identifica la sostanza che ha procurato un assorbimento della radiazione che comporta una variazione degli stati vibrazionali molecolari .

La spettroscopia si ottiene proiettando una radiazione elettromagnetica di intensità nota su un campione, raccogliendo una parte di radiazione (trasmessa, riflessa o riemessa) e inviando quanto raccolto a un rivelatore.

L’interazione con la materia può avvenire in diversi modi, ovvero può essere assorbita dal campione, riflessa, oppure trasmessa in parte o completamente attraverso il campione. Il modo ed il grado con cui questi effetti avvengono dipendono dallo stato fisico del campione e dal sistema di lettura utilizzato.

I sistemi a trasmissione sono usati principalmente per campioni allo stato liquido o per strati sottili di solidi, mentre la modalità di riflessione della radiazione è più utile per campioni allo

stato solido. Nel caso in cui il campione non riflette e non trasmette la radiazione in modo sufficiente, è possibile utilizzare come parametro la misura della trasflettanza. In questo caso la radiazione penetra nel campione, che ne assorbe una parte, poi viene riflessa su una superficie non assorbente posta sul fondo della cella e ritrasmessa attraverso il campione al detector.

Un ulteriore avanzamento delle tecniche spettroscopiche riguarda la spettroscopia in trasformata di Fourier che misura lo spettro di assorbimento di una particolare sostanza, cioè l'assorbimento di energie alle diverse lunghezze d'onda. Il principale vantaggio di questo genere di spettroscopia, rispetto alle tecniche tradizionali è dovuta alla maggiore quantità di luce che passa attraverso il campione (Hollas, 2004).

La spettroscopia può essere affetta da fenomeni di scattering, ovvero di diffrazione della radiazione sulla superficie, specialmente nel caso dell'acquisizione di campioni solidi: infatti, tanto più si ha scattering della radiazione incidente, tanto meno in profondità penetra il raggio e perciò tanto minore sarà l'assorbanza (apparente o reale). I fenomeni di scattering dipendono essenzialmente dalle proprietà fisiche del campione (dimensione delle particelle, ambiente cristallino) e possono provocare spostamenti nella linea di base dello spettro e indurre fenomeni di collinearità alle diverse lunghezze d'onda(Dahm et al., 2001).

3.3 La regione del vicino infrarosso

La regione vicino infrarosso dello spettro elettromagnetico è compresa nelle lunghezze d'onda tra 12800 e 4000 cm^{-1} . La American Society for Testing Materials (ASTM) definisce la regione NIR dello spettro elettromagnetico come l'intervallo di lunghezza d'onda tra 780 – 2526 nm corrispondendo a un numero d'onda tra 12820–3959 cm^{-1} .

Si noti che uno spettro vicino infrarosso consiste nella convoluzione della funzione strumento di misura con caratteristiche ottiche uniche del campione da misurare (cioè il campione è un elemento ottico attivo dello spettrometro). La struttura dello spettro fornisce una base per la creazione di un noto rapporto di correlazione di causa ed effetto tra la risposta dello strumento e quella analitica di riferimento dei dati. Lo spettro che si ottiene nelle letture del vicino dipende dalle proprietà chimico-fisiche del campione che durante l'analisi viene colpito da radiazioni incidenti, le quali possono essere assorbite, in parte trasmesse ed in parte riflesse.

Le misure in questa regione possono essere eseguite sia in trasmittanza che in riflettanza:

- nel caso dell'acquisizione dei dati in trasmittanza ciò che viene misurato è l'intensità della luce trasmessa attraverso il campione rispetto all'intensità della luce incidente:

$$T = I/I_0$$

- nel caso di acquisizione di dati in *riflettanza*, ciò che viene misurato è l'intensità della luce riflessa rispetto all'intensità della luce incidente:

$$R = I_{rifl} / I_0$$

Secondo la legge di Kubelka-Munk, la riflettanza dipende dal coefficiente di assorbimento KR e dal coefficiente di dispersione s di un campione:

$$(R_\infty) = KR/s \quad \text{dove } R_\infty \text{ è la riflettanza assoluta.}$$

A livello sperimentale viene normalmente misurata la riflettanza relativa, cioè l'intensità della luce riflessa dal campione rispetto all'intensità della luce riflessa da un materiale di riferimento, con una riflettanza assoluta alta e costante. Nella pratica, la riflettanza relativa è spesso convertita in assorbanza apparente A' , utilizzando una relazione empirica tra concentrazione di analita e riflettanza simile alla legge di Lambert e Beer:

$$A' = \log 1 / R = a' c$$

L'assorbanza viene misurata anche nella spettroscopia nel vicino infrarosso in trasformata di Fourier. Tuttavia, se la matrice è altamente assorbente o l'analita mostra bande di assorbimento piuttosto intense la relazione lineare tra assorbanza e concentrazione viene meno.

3.4 La spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS)

La tecnica NIRS usa la radiazione riflessa (riflettanza) invece che quella trasmessa attraverso il campione (trasmittanza). Il basso coefficiente di assorbimento della tecnica NIRS, tuttavia, permette una penetrazione più alta e profonda, e un aggiustamento dello spessore del campione. Questo aspetto rappresenta un vantaggio analitico della tecnica NIRS, poiché permette un'analisi diretta di campioni fortemente assorbenti e con elevato effetto di scattering, quali ad esempio i liquidi torbidi e i solidi, senza la necessità di ulteriori trattamenti. Informazioni più dettagliate sulla teoria dell'assorbimento e sugli effetti di scattering possono essere trovati negli articoli di Burger (1998) e Olinger *et al.* (2001).

Un particolare approccio è quello previsto dalla spettroscopia nel vicino infrarosso in trasformata di Fourier (FT-NIRs) che applica direttamente il modello di Fourier allo spettro di assorbimento di una particolare sostanza, ovvero all'assorbimento di energia di quel campione alle diverse lunghezze d'onda. Il principale vantaggio di questo genere di spettroscopia, rispetto alle tecniche tradizionali è dovuta alla maggiore quantità di luce che passa attraverso il campione (Hollas, 2004). La spettroscopia nel vicino infrarosso in trasformata di Fourier è stata applicata prima nel settore chimico farmaceutico grazie alla sua maggiore capacità in termini di accuratezza e precisione, rispetto agli altri sistemi spettroscopici e successivamente anche nel campo agroalimentare. Il metodo prevede che inizialmente sia effettuata una lettura dello spettro senza alcun campione (scansione del background), ciò permette di misurare la quantità di luce trasmessa alle diverse lunghezze, eseguendo una trasformata di Fourier dello spettro risultante. Successivamente si inserisce la sostanza da analizzare e la sua misurazione, dopo la trasformata di Fourier e la sottrazione del background, corrisponderà allo spettro di assorbimento desiderato. L'intera operazione può essere eseguita in tempi molto rapidi, in quanto il calcolo della trasformata di Fourier è compreso direttamente nella programmazione dello strumento.

In tutti i sistemi NIRs, le chiavi di lettura che determinano le proprietà degli eventi e degli spettri, ovvero la frequenza e l'intensità delle bande di assorbimento NIRS sono l'anarmonicità e la risonanza di Fermi, le cui basi fisiche e conoscenze più approfondite possono essere trovate in letteratura (Ciurczak, 2000; Bokobza, 2002).

Lo spettro ottenuto mediante lettura nel vicino infrarosso, mettendo l'intensità dell'assorbimento in funzione dei numeri d'onda, è caratterizzato da picchi riferibili a gruppi funzionali specifici presenti nel campione (Sinelli, 2008). Nella regione NIR sono misurate le vibrazioni degli atomi di idrogeno legati ad atomi quali azoto, ossigeno, carbonio e ossigeno legato al carbonio. Gli assorbimenti dell'energia elettromagnetica seguono la legge di Lambert-Beer, che descrive le proprietà di interazione di una sostanza con la radiazione elettromagnetica, in relazione alla concentrazione di un particolare costituente.

La regione spettrale NIR appare quindi molto ricca di informazioni: le bande di assorbimento più significative sono attribuite agli overton o alle combinazioni di transazione vibrazionale di legami (combinazioni di vibrazioni fondamentali) relative ai gruppi funzionali C-H, N-H, O-H. La regione spettrale del NIR è associata, quindi, all'assorbimento dei gruppi funzionali X-Hn. Comunque, tutti i legami organici hanno bande di assorbimento nella regione del NIR, mentre i minerali possono essere rilevati esclusivamente in complessi organici e nei chelati, oppure per i loro effetti sui legami dell'idrogeno. Le descrizioni complete e i riferimenti sulle correlazioni spettri-struttura e ulteriori dettagli tecnici di spettri nel vicino infrarosso sono

riportati in bibliografi (Workman, 2001; Weyer et al., 2002) e nel capitolo successivo (3.6) per la valutazione degli alimenti destinati agli animali.

La tecnica NIRS, quindi, permette di effettuare un'analisi di tipo quantitativo per la determinazione di componenti che contengono tali legami (acqua, proteine, lipidi, carboidrati) ottenendo uno spettro caratteristico del campione (Sinelli, 2008; Cerretani 2013).

Inoltre, esiste una dipendenza del segnale dalle proprietà fisiche del campione utile quando la tecnica NIR è impiegata per determinare parametri fisici, ma svantaggiosa quando è utilizzata per determinazioni qualitative come l'identificazione di prodotti o il monitoraggio di parametri chimici di un processo (umidità, omogeneità dei campioni), e per l'analisi quantitativa di uno o più componenti.

Tuttavia, essendo le bande di assorbimento NIRS molto ampie e spesso sovrapposte (10-100 volte più deboli delle loro corrispondenti bande di assorbimento nel medio-IR) si rende necessario l'uso della chemiometria, cioè applicazioni matematiche alla chimica analitica (Williams P.C., 2001; Givens *et al.*, 1998). In merito a ciò, sono stati messi a punto alcuni pretrattamenti di tipo matematico da eseguirsi sugli spettri prima dell'elaborazione statistica vera e propria.

3.5 Metodi di analisi quantitativa mediante NIRs

La tecnica della chemiometria, ovvero l'applicazione di matematica alla chimica analitica (Williams et al., 1987; Givens et al., 1998), è un'integrazione alla spettroscopia di statistica e scienza computeristica attraverso cui sono costruiti modelli matematici che mettono in relazione gruppi chimici funzionali, o molecole, di determinati costituenti dell'alimento con gli assorbimenti energetici della regione nel vicino infrarosso. Tale approccio ha lo scopo di creare correlazioni dei dati analitici reali, determinati attraverso la chimica classica, a valori di energie di assorbimento a determinate lunghezze d'onda dello spettro della radiazione elettromagnetica. La chemiometria, coinvolge una trasformazione matematica dei dati di riflettanza e il calcolo dei coefficienti di correlazione ad ogni lunghezza d'onda, selezionando contemporaneamente le lunghezze d'onda che meglio corrispondono ai costituenti dell'alimento oggetto di studio.

L'impiego della spettroscopia NIR per la determinazione della composizione chimica degli alimenti richiede una fase di calibrazione che prevede l'individuazione di campioni rappresentativi e uno studio statistico fra i dati di composizione chimica e le proprietà degli spettri. Dopo alcune operazioni di modellazione matematica e di validazione, realizzati con metodi chemiometrici, lo strumento è in grado di predire la composizione chimica di campioni ignoti con un margine di errore definito dalla precisione statistica della regressione.

Prima che un apparecchio NIRs possa fare una analisi quantitativa è necessario sviluppare una calibrazione specifica per la matrice da analizzare usando metodi multivariati. Il processo prevede le seguenti fasi:

1. Selezione di un numero di campioni rappresentativo per la calibrazione. Per creare nuove curve di taratura specifiche, è necessario disporre di un numero di campioni adeguato e rappresentativo. Idealmente, il set di campioni per la calibrazione dovrebbe avere la più ampia variabilità possibile dei costituenti e la migliore uniformità dei campioni.
2. Acquisizione degli spettri e determinazione dei valori di riferimento. Dopo l'acquisizione degli spettri nell'intervallo di lunghezza d'onda del NIRs, le informazioni cercate nei campioni devono essere parallelamente determinate con tecniche di analisi indipendenti.
3. Trattamento dei dati spettrali per la calibrazione.

I dati spettrali, prima di procedere con la calibrazione vera e propria, possono essere pretrattati allo scopo di migliorare le prestazioni della calibrazione stessa.

La prima fase prevede lo studio relativo alla presenza di outliers e del loro significato. Gli outliers rappresentano i valori che trovandosi fuori dal range di riferimento devono essere rimossi per la calibrazione e la validazione. In verità, gli outliers dovrebbero essere rimossi dal training set solo se mostrano uno spettro insolito facilmente rilevabile. Naturalmente l'influenza degli outliers è maggiore quando il numero di campioni è abbastanza piccolo e di conseguenza i risultati statistici possono cambiare drasticamente rimuovendo uno o due grandi errori. Se un outlier è un campione atipico, ma reale, la questione è più complicata e dipende l'obiettivo del modello: prevedere bene i campioni medi o predire i campioni estremi (Dardenne, 2010).

La seconda fase prevede l'applicazione di correzioni tra cui le più comunemente usate sono: la SNV-detrending (*Standard Normal Variate-detrending*), la derivatizzazione e l'MSC (*Multiplicative Scatter Correction*).

Il detrending agisce riducendo sia l'effetto light scattering dovuto alle dimensioni delle particelle del campione, che la curvatura lineare e quadratica di ogni spettro riconducendo quest'ultimo, pur mantenendo le sue caratteristiche, ad uno spettro target il quale può successivamente essere trattato come gli altri.

Il multiplicative scatter correction (MSC) è utilizzato nella spettroscopia NIRS come metodo per correggere i segnali causati dal rumore e legati alla rifrazione della luce o al percorso ottico di ciascun campione. Viene usato per annullare gli effetti moltiplicativi o addittivi degli spettri eliminandone le interferenze ottiche (Maleki et al., 2007). Martens et al. (1983) hanno dimostrato che l'interferenza ottica per i dati spettrali richiede una linearizzazione diversa rispetto a quella per i dati delle analisi chimiche.

Le correzioni in MSC dovrebbero essere fatte su una parte dello spettro che non contiene informazioni chimiche in modo da essere influenzato solo dalla rifrazione della luce. Tuttavia le regioni dello spettro che non hanno informazioni chimiche spesso contengono uno spettro in cui il rapporto segnale-rumore è scarso. Nell'applicazione pratica viene, infatti, utilizzato l'intero spettro. Ogni spettro viene corretto utilizzando un particolare modello lineare in modo che tutti i campioni possano avere lo stesso livello ideale di rifrazione e di solito la base ideale è rappresentata dalla scansione media.

In letteratura si riporta che MSC può essere utilizzato per la pre-elaborazione di dati a partire da matrici diverse: carne (Geladi et al., 1985), grano (Barnes et al., 1989; Wang et al., 2004), latte (Chen et al., 2002) e prodotti del suolo (Kooistra et al., 2001).

In conclusione l'MSC viene utilizzato per correggere gli errori dovuti principalmente al percorso ottico allo scopo di eliminare gli effetti fisici causati da campioni disomogenei per dimensioni, temperatura, ecc.

Il trattamento matematico di derivata prima o seconda è di solito impiegato per amplificare assorbimenti, in determinate regioni spettrali, che possono spiegare differenze analitiche.

4. Applicazione del modello chemiometrico per la calibrazione. L'analisi multivariata dei dati spettrali utilizza modelli di regressione multipla dei valori di assorbanza (variabili X) connessi con i valori di riferimento (variabili Y) derivanti dalle analisi chimiche. Se non esiste alcun rapporto di causa-effetto tra correlazione e valori di riferimento spettri-struttura il modello non avrà alcuna vera importanza predittiva. La conoscenza di causa ed effetto crea una base per le decisioni scientifiche (Workman, 2014). I modelli che possono essere utilizzati sono:

- regressione lineare multipla _ Multiplicative Linear Regression (MLR)
- regressione stepwise e regressione Step-up.
- regressione dei componenti principali _ Principal Component Regression (PCR)
- regressione ai minimi quadrati parziali _ Partial Least-Squares Regression (PLS) e sue modifiche Modified Partial Least Square (MPLS);
- reti neurali artificiali _ Artificial Neural Network (ANN)
- macchine a vettori di supporto _ Support Vector Machine (SVM)

Nella maggioranza dei casi per le applicazioni NIRS sono utilizzate la PCR e la PLS. Quando l'intervallo della proprietà da prevedere è molto ampio, per esempio quando si tratta di composizioni in un intervallo da 0 a 40%, o quando il training set è molto eterogeneo, o sono presenti forme fisiche molto diverse tra loro, le equazioni predittive lineari usate negli approcci standard possono risultare carenti in flessibilità. In alcuni casi l'uso di metodi locali,

che si adattano alle equazioni lineari su intervalli limitati, come le ANN o le SVM, possono portare a migliori predizioni.

5. Validazione del modello mediante “cross validation”, e predizione.

Ottenuta la curva di calibrazione si procede alla sua validazione in cross validazione e in predizione utilizzando lo stesso data set dei campioni in calibrazione o uno esterno.

La cross validation è una tecnica statistica utilizzata per definire la bontà del modello utilizzato nella calibrazione NIR. In presenza di una buona numerosità del *training set* (campioni osservati), la cross validation risulta semplice ma non di facile attuazione soprattutto nella scelta di quanti e quali campioni considerare. E' ovvio che il risultato (RMSECV) può cambiare a seconda di quali campioni vengono considerati per la validazione. La precisione della metodologia in prova deve essere stimata con un set di dati appropriato preferibilmente indipendente dal set di calibrazione. Per indipendente si intende che campioni di validazione devono provenire da prove, tempi di raccolta o nuovi lotti con lettura spettrale eseguita in momenti diversi da quella degli spettri in calibrazione (Dardenne, 2010).

Nel caso in cui la numerosità dei campioni non sia abbastanza elevata e variabile da permettere di avere a disposizione un set di campioni in calibrazione ed uno in validazione sono utilizzate metodiche statistiche che tramite applicazione di modelli matematici permettono di riutilizzare gli stessi dati. Il metodo più comune per validare un modello è quello del *leave-one-out*, letteralmente “uno-lasciato-fuori”. Esso consiste nel ridurre a 1 il contenuto dell'insieme di test, e nel valutare l'errore di predizione rispetto al dato eliminato. Eliminando consecutivamente tutti i dati e facendo la media degli errori ottenuti si ottiene una stima robusta dell'errore di predizione del modello funzionale.

6. Misura dell'attendibilità

Il risultato che si ottiene, che misura l'attendibilità della stima, è un coefficiente di regressione (R^2 coefficient of determination) e un errore quadratico medio (RMSE *Root Mean Square Error of Calibration E*) in:

- calibrazione R^2 e RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*),
- validazione (RMSECV *Root Mean Square Error of Cross- Validation*)
- predizione RMSEP *Root Mean Square Error of prediction*).

Il coefficiente di determinazione (R^2) è una proporzione tra la variabilità dei dati e la correttezza del modello statistico utilizzato. Esso misura la frazione della varianza della variabile dipendente espressa dalla regressione. L' R^2 è un valore compreso fra 0 e 1, se prossimo ad 1 significa che la regressione predice bene il valore della variabile dipendente nel campione. Nelle analisi quantitative, una buona calibrazione NIRS avrà una R^2 di circa 0.95, mentre risultati con R^2 sotto 0,80 sono considerati discutibili o comunque da approfondire (Beth de Ondarza, 2013) .

L'errore quadratico medio (RMSE) misura la discrepanza quadratica media fra i valori dei dati osservati ed i valori dei dati stimati; valutando il potere di regressione di un modello. Il coefficiente di determinazione indica il grado di collinearità tra i dati misurati e quelli predetti dallo strumento descrivendo un modello di variazione della variabile X in funzione della variabile Y . L' R^2 è un valore compreso fra 0 e 1, se prossimo ad 1 significa che la regressione predice bene il valore della variabile dipendente nel campione.

L'errore quadratico medio misura la discrepanza quadratica media fra i valori dei dati osservati ed i valori dei dati stimati; valutando la capacità di regressione di un modello. In pratica l'RMSE misura quanto accuratamente il modello predice la risposta.

Questo errore indica la differenza tra la deviazione standard e i valori previsti che in questo caso si riferiscono alla composizione chimica- nutrizionale:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}{n}}$$

In cui: x_i è il valore dell'analisi chimica, y_i è il valore predetto e n il numero di campioni considerati.

Il RMSE è una misura assoluta di precisione di adattamento mentre il R^2 è una misura relativa di adattamento.

In un modello fortemente non lineare, il caso in cui è presente un errore di calibrazione nullo ed errore di validazione elevato è definito *overfitting* (eccessivo adattamento). In tale processo il metodo di regressione diventa sopra-specializzato nel descrivere i casi di calibrazione ma non adeguato all'intero range di dati ovvero a descriverne i casi non utilizzati.

Infine, può essere calcolato il ratio of prediction to deviation (RPD) ovvero il rapporto tra la deviazione standard dei dati analitici di riferimento e l'errore quadratico medio (Williams et al., 1995). Il fattore RPD misura l'incremento dell'accuratezza delle stime rispetto ai valori medi di Y cioè quanto un modello di predizione è accurato rispetto alla media dei dati analitici di riferimento (Kusumo et al., 2008).

$$RPD = \frac{SD(y)}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}}}$$

Se il valore di RPD al di sotto di 1.5 indica che il modello è inutilizzabile, se compreso tra 1.5 e 2.0 che ha le potenzialità di distinguere set di dati con valori alti e bassi, mentre tra 2,0 e 2,5 si traduce nella possibilità di effettuare l'analisi quantitativa. Valori di RPD superiori a 2,5 sono considerati per indicare eccellenti capacità predittive del modello (Goldshleger et al., 2013)

Qualsiasi sia l'algoritmo usato, è fondamentale produrre una calibrazione e una validazione stabile e robusta senza intaccarne l'accuratezza. La robustezza di calibrazione e di validazione si riferiscono soprattutto a fonti di variabilità esterna. Infatti, oltre alla variabilità naturale tra un campione e l'altro, vi sono anche altri fattori fra cui le variazioni nella temperatura del campione e differenze tra gli strumenti usati per effettuare le misure degli spettri.

3.6 La valutazione dei foraggi mediante NIRs

La determinazione della qualità dei foraggi con la tecnica NIRS fu riportata per la prima volta da Norris et al.(1976) in quella che è diventata la più nota pubblicazione sul tema. Gli autori trovarono un errore standard (SE) di 0.95, 3.1, 2.5, e 3.5%, rispettivamente per proteina grezza (CP), fibra neutro detersa (NDF) e fibra acido detersa (ADF), lignina e digeribilità della sostanza secca *in vitro* (DMD), misurata in un diverso range di campioni di foraggio. Tale pubblicazione stimolò ampio interesse e seguirono numerose ricerche per estenderne l'uso e affinarne la tecnica (Shenk 1992).

La diffusione dell'utilizzo della spettroscopia nel vicino infrarosso nella determinazione dei principali parametri relativi alla composizione chimica dei foraggi è stata dimostrata da molti lavori e riportati in maniera estesa da Murray (1993) Shenk (1992) e da Roberts et al (2003).

Un ulteriore significativo successo fu l'adozione della tecnica NIRS come metodo ufficiale dall'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) per la determinazione dell'umidità, delle proteine grezze e della fibra acido detersa nei foraggi (Barton et al., 1988 in Shenk, 1992; Windham et al., 1991; Roberts et al., 2003). Uno fra i limiti e i problemi principali nell'applicazione chimica quantitativa della spettroscopia NIRS, agli alimenti destinati agli animali è l'inadeguatezza, in termini di bassa precisione e ripetibilità, di molti metodi di riferimento convenzionalmente utilizzati nei laboratorio. Secondo Murray (1988) “stiamo usando la chimica del diciannovesimo secolo per calibrare tecnologie del ventesimo”, ma il problema è stato descritto anche successivamente da molti autori in Shenk, (1992).

L'interpretazione degli spettri NIRs per foraggi e gli alimenti destinati agli animali è basata principalmente sulle bande di assorbimento identificabili di C-H (carboidrati e lipidi), N-H (proteine) e O-H (proteine, carboidrati e lipidi) nella regione fra 1400 e 2500 nm (Clark,1960; Ditchburn, 1965). La maggior parte degli spettri NIR, può essere spiegata mediante assegnazione delle bande di overtone e di combinazione delle vibrazioni fondamentali che coinvolgono i diversi tipi di stretching idrogenionico. Per ogni parametro relativo alla composizione chimica dei foraggi di seguito sono riportate indicazioni relative alla regione del vicino infrarosso in cui si ritrovano le bande determinate dalle vibrazioni delle molecole che la compongono.

Umidità

L'acqua è la caratteristica dominante nello spettro NIRs per il suo assorbimento nelle bande di combinazione 1870-1945 e nella prima banda overtone 1430-1450 nm (Roberts et al., 2003). Lo spettro NIR dell'acqua fu pubblicato da Curcio e Petty nel 1951. Esso includeva bande relative al primo e al terzo overtone dello stretching del gruppo O-H a 1450, 969, e 760 nm. Hecht e Wood nel 1956 individuarono un picco a 1945 nm che attribuirono all'acqua legata a proteine. Questa banda è indubbiamente una combinazione di stretching del gruppo O-H a 2857 nm con la conseguente deformazione a 6079 nm.

Sotto l'aspetto applicativo l'umidità assume particolare importanza nei campioni diversi per quantità in proteine e costituenti fibrosi in quanto le maggiori differenze spettrali sono manifestate in regioni associate con assorbimenti di -OH (Roberts et al., 2003).

La posizione delle bande, come tutte quelle che caratterizzano un ossidrilico, è dipendente dalla temperatura e dalle condizioni del legame idrogeno. Considerando che l'umidità è una caratteristica che varia velocemente nei campioni, molta attenzione deve essere posta nella

metodologia utilizzata per la calibrazione (Roberts et al., 2003) specialmente negli aspetti relativi alla preparazione del campione di cui ne è un esempio la macinatura.

Ceneri

L'analisi degli elementi minerali nei foraggi e negli alimenti destinati agli animali ha dato i risultati peggiori rispetto a tutte le applicazioni NIRS (Van Kempen, 2001). La motivazione risiede nel fatto che i minerali non riflettono la luce e non assorbono nella regione del vicino infrarosso. Di conseguenza la determinazione delle ceneri tramite NIRS è una stima indiretta basata sulla relazione con gli altri nutrienti presenti nel foraggio, in particolare con i composti organici (De Boever et al., 1994).

Proteine

La proteina grezza è un parametro con elevata ripetibilità se determinato attraverso la metodologia della chimica analitica. Anche nell'applicazione della tecnica NiRS per gli alimenti destinati agli animali le proteine permettono di avere risultati precisi anche in range abbastanza ampi (Beth de Ondarza et al., 2013).

Le proteine mostrano tre bande di assorbimento principali, nella regione di combinazione del gruppo N-H, a 1980, 2049 e 2180 nm (Osborne et al., 1993).

Le ammine primarie in genere presentano un picco di combinazione relativo al rapporto N-H stretching/N-H a circa 2000 nm, una doppia banda a circa 1500 e 1530 nm dovuta ad un primo overtone di stretching del gruppo N-H e una banda a circa 1000 nm relativa al secondo overtone. Le ammine secondarie dovrebbero presentare una banda singola tra 1520 e 1540 nm e 1030 nm. Le ammine aromatiche mostrano assorbimenti attorno a 1459, 1500 e 1000 nm; non ci si aspetta nessuna banda di assorbimento dovuta al gruppo N-H per quanto riguarda invece le ammine terziarie.

Lipidi

I lipidi grezzi misurati nella chimica analitica come estratto etereo sono comunemente stimati in mangimi misti e in molti tipi di grano tramite NIRS (Charles et al., 1986; Murray et al., 1983; Redshaw et al., 1986; Pazderniket al., 1997). Il vicino infrarosso potrebbe essere usato per valutare i lipidi g. grazie al caratteristico assorbimento della catena alifatica -CH tra 2310 e 1725nm, con una debole banda overtone tra 1400 e 1210nm. Nei foraggi i lipidi grezzi non sono determinati comunemente nei foraggi perché sono presenti a livelli bassi e i valori oscillano in range troppo piccoli. In particolare nelle ricerche in cui è stata provata la calibrazione del NIRS per i lipidi di tipologie diverse di foraggi i valori di SEC ottenuti sono risultati sempre bassi (0,57) (Roberts et al., 2003).

Fibra

La fibra è comunemente stimata tramite NIRS nei foraggi e negli alimenti destinati agli animali grazie alle variazioni di assorbimento di -CH e -OH. Tuttavia, la fibra è una proprietà del foraggio, non un suo costituente e alcune calibrazioni perdono in precisione quando la popolazione considerata è molto variabile (Reeves, 1994). In effetti, le componenti fibrose nei vegetali si presentano molto eterogenee e contengono spesso proporzioni fortemente variabili delle diverse frazioni. La motivazione risiede nel fatto che i foraggi destinati agli animali frequentemente appartengono a specie botaniche diverse con stadi fenologici che non si evolvono nello stesso modo e raggiungono la maturazione in momenti diversi. I valori dei parametri relativi alla fibra, di conseguenza, possono coprire un range molto ampio e raggiungere valori elevati. Una review ha concluso che il NIRS è considerato un ottimo

metodo per stimare la parete cellulare per foraggi appartenenti alla medesima famiglia botanica (Giger- Reverdin, 1995).

Inoltre, confrontando i coefficienti di determinazione, nelle calibrazioni per la lignina spesso si ottengono errori alti rispetto ad altri parametri come le proteine (Jenish et al., 1994). Secondo (Reeves et al., 1998) ciò potrebbe essere la conseguenza della procedura chimica-analitica primaria che comporta alti livelli di errore. Tuttavia, altri studi riportano calibrazioni per la lignina migliori rispetto alla fibra acido detersa (Garcia et al., 1993)

3.7 Altri sistemi di valutazione delle caratteristiche nutrizionali dei pascoli

Tutti i sistemi vegetali sono in grado di riflettere luce e grazie a questa proprietà sono stati effettuati molti studi relativi alla valutazione delle caratteristiche nutrizionali dei pascoli (Mueller et al., 2008; Pettorelli et al, 2011; Ranghetti et al, 2014).

La luce è un particolare tipo di energia elettromagnetica e che si trasmette mediante radiazioni ondulatorie. Una radiazione elettromagnetica può essere costituita da una singola lunghezza d'onda (monocromatica), ma normalmente è composta da radiazioni di diverse lunghezze d'onda. Quando un oggetto viene investito da un fascio luminoso è in grado di assorbire una parte della luce, la frazione non assorbita viene normalmente riflessa o trasmessa. Perché la luce venga assorbita è necessario che le sue lunghezze d'onda siano uguali a quelle dei moti vibrazionali dei legami che compongono atomi e molecole.

L'occhio umano percepisce le singole radiazioni monocromatiche (grandezze fisiche) come singoli colori (percezioni soggettive): per esempio, la radiazione più corta, quella di 400 nm viene percepita come violetto, quella intermedia di 550 nm come verde e quella di 700 nm come rosso (fig. 2).

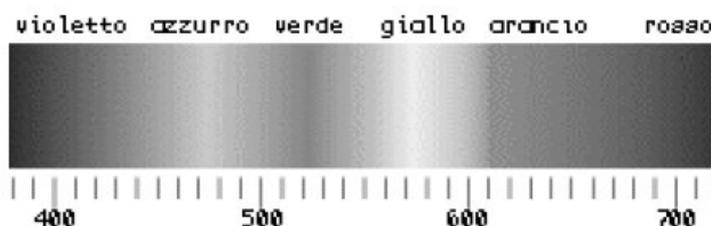


Figura 2: Rappresentazione dei colori dello spettro visibili all'occhio umano su di una scala rappresentante il valore della lunghezza d'onda in nm.

Ad ogni lunghezza d'onda corrisponde una determinata sensazione di colore. Se mettiamo in sequenza tutte le radiazioni monocromatiche visibili, indicate con la loro lunghezza d'onda, e i rispettivi colori percepiti (figura 1), possiamo costruire lo spettro dei colori. Un colore di spettro (percepito) è dunque in corrispondenza biunivoca con una radiazione monocromatica (stimolo). La motivazione per cui alcuni colori sono assenti (bianco, nero, grigi, il rosa, il lilla, il marrone, il porpora e tanti altri) è spiegata dal fatto che un colore spettrale costituisce la percezione di una radiazione monocromatica di determinata lunghezza, e la luce del sole, come tutte le luci esistenti in natura, è una miscela di radiazioni monocromatiche di diverse lunghezze. Infatti, in natura, le radiazioni monocromatiche non esistono: le radiazioni visibili naturali sono sempre una mescolanza di radiazioni monocromatiche in concentrazioni diverse che arrivano contemporaneamente al nostro occhio. Ogni radiazione monocromatica, se vista isolatamente, viene percepita come un certo colore spettrale. L'occhio tuttavia non è in grado di percepire individualmente i singoli colori spettrali di una radiazione non monocromatica, ma un altro colore, non di spettro, per così dire complessivo. Si tratta dei colori non spettrali. Per esempio, come si è visto, la luce solare contiene tutte le lunghezze d'onda visibili (e anche componenti infrarosse e ultraviolette) ma l'occhio non ne distingue individualmente i colori e ne determina una sensazione complessiva di bianco. Dunque, il colore (Boscarol, 2008) è una percezione soggettiva provocata da uno stimolo oggettivo. I fenomeni legati all'interazione luce-materia sono ben noti e fanno parte della vita quotidiana; l'occhio, infatti, sfrutta questi fenomeni per darci informazioni sul mondo circostante: la luce arriva alla retina dell'occhio e

attraverso il nervo ottico raggiunge il cervello dove si crea la sensazione di colore. Lo stimolo fisico (luce) che causa la percezione del colore, può essere descritto e studiato cercando di costruire una relazione con un modello matematico, tra grandezze fisiche e grandezza percettive, tenendo in considerazione la sensibilità dell'occhio "medio": è il compito della psicofisica, in particolare della colorimetria. Lo spazio visivo a cui si fa riferimento è compreso tra i valori di 380 e 780 nm ma nei tabulati utilizzati dalle Commission Internationale de l'Eclairage (CIE; Ford et al, 1998, Walford,1980) i limiti sono compresi fra 400 e 700 nm.

La Colorimetria è una branca di studio che si occupa della misurazione del colore e trova applicazione in molti campi della ricerca scientifica, nei settori del controllo di prodotti e di processi industriali, ovunque sia richiesta la riproduzione del colore (Oleari, 1996). Il suo compito è di associare alla radiazione riflessa dai corpi che non emettono autonomamente radiazione elettromagnetica una serie di variabili quantitative che ne definiscano il colore. Lo studio volto alla misurazione e rappresentazione del colore ha portato allo sviluppo di numerosi modelli per la classificazione e la qualificazione di ciascun colore in base ad alcuni attributi come la tinta, la saturazione, la cromaticità, la lucentezza o la brillantezza. La maggior parte dei modelli utilizzati considera il principio di miscelazione addittiva a partire dai colori primari: rosso, verde, blu. Negli anni sono stati messi a punto diversi sistemi per la misurazione del colore: HSL, Munsell, RGB, CMYK, XYZ, CIE Lab. Il sistema CIE (1976) prende in considerazione tre coordinate colorimetriche nello spazio tridimensionale (fig.3):

- luminosità (L^*) : esprime la quantità di luce, distinguendo colori chiari e scuri. Questo parametro comprende valori da 0 (L^* nulla) a 100 (L^* massima, rappresentato da un bianco scelto come riferimento);
- indice del rosso (a^*): esprime il colore rosso se positivo e verde se negativo, con valori che variano da meno a più infinito;
- indice del giallo (b^*): esprime il colore giallo se positivo e blu se negativo, con valori che variano da meno a più infinito.

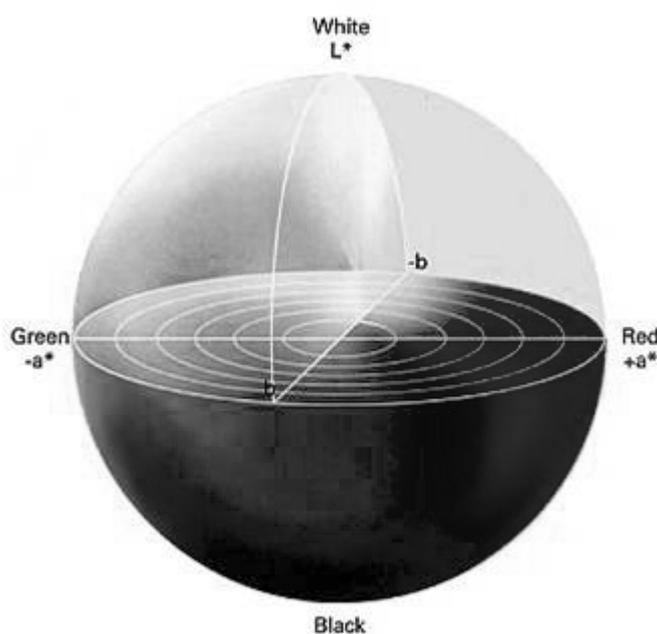


Fig. 3 Coordinate colorimetriche nello spazio tridimensionale

La riflessione della radiazione da parte dei sistemi vegetali dipende sia dalle proprietà delle singole componenti della vegetazione (foglie, fusto, suolo, acqua, etc.), sia dalla conformazione spaziale della vegetazione in relazione all'incidenza della radiazione elettromagnetica. L'interazione della radiazione e l'intensità degli spettri di riflessione, assorbimento e trasmissione, dipendono dalla lunghezza d'onda ma anche dalle strutture e dalle caratteristiche chimiche delle piante stesse, come la composizione chimica, la struttura e il contenuto di acqua, etc.

La riflessione della radiazione da parte dei sistemi vegetali dipende sia dalle proprietà delle singole componenti della vegetazione (foglie, fusto, suolo, acqua, etc.), sia dalla conformazione spaziale della vegetazione in relazione all'incidenza della radiazione elettromagnetica e all'orientamento del sensore. L'interazione della radiazione con l'apparato fogliare, quindi l'intensità degli spettri di riflessione, assorbimento e trasmissione, dipende non solo dalla lunghezza d'onda ma anche dalle strutture e dalle caratteristiche chimiche della pianta stessa, come la composizione chimica, la struttura della foglia, il contenuto di acqua, etc.

Le foglie assorbono gran parte della radiazione di incidenza nella lunghezza d'onda del visibile ed una piccola parte di radiazione infrarossa, eccetto una porzione di banda infrarossa assorbita dall'acqua; ne consegue che la riflessione e la trasmissione siano più basse nel visibile e più alte nell'infrarosso. Ciò che determina le proprietà dello spettro vegetazionale, soprattutto nelle lunghezze d'onda del visibile, è la composizione chimica: di fondamentale importanza sono la concentrazione dei pigmenti fotosintetici (specialmente la clorofilla), dei carotenoidi e dei flavonoidi. Il pigmento dominante, la clorofilla, ha il suo massimo di assorbimento nel rosso e nel blu, i carotenoidi nel blu-verde, le altre componenti strutturali come le proteine e la lignina hanno un caratteristico spettro nell'infrarosso. Nonostante la predominanza nello spettro del visibile della clorofilla, durante l'autunno la sua concentrazione decresce a favore dei carotenoidi e flavonoidi che determinano la colorazione rossa autunnale. L'acqua ha invece una predominanza di assorbimento nello spettro del medio infrarosso; ciò determina una riflettanza inversamente proporzionale al contenuto in acqua (utile per analizzare lo stress idrico). Proteine, cellulosa e lignina contribuiscono all'assorbimento nelle bande dell'infrarosso.

Inoltre, la riflettanza è influenzata dagli spazi intracellulari²: le piante mature diminuiscono la riflettanza nell'infrarosso per il collasso della struttura fogliare e la riduzione degli spazi intracellulari; ciò però comporta un aumento della riflettanza. La differenza della composizione dei pigmenti della vegetazione è usata per l'identificazione della specie e per stimare il contenuto in clorofille, cellulosa e lignina. grazie all'utilizzo di dati telerilevati. Le immagini satellitari nello spettro del visibile permettono di ottenere informazioni sulla topografia, sulla temperatura del suolo, sul colore delle superfici oceaniche e sulla fenologia della vegetazione (Pettorelli et al., 2005). Per l'acquisizione dei dati telerilevati alla radiazione elettromagnetica si utilizzano sensori attivi o passivi localizzati su piattaforme terrestri, aeree e satellitari.

² Solo una porzione della radiazione incidente viene riflessa dalla superficie della cuticola; la rimanente viene assorbita dai pigmenti fotosintetici o diffusa negli spazi intracellulari, creando delle discontinuità nell'indice di riflessione

L'analisi fenologica delle praterie attraverso l'uso di dati telerilevati è un aspetto che sta assumendo sempre maggiore importanza negli studi ecologici. Questi studi sfruttano la capacità della clorofilla di assorbire la luce rossa, contrapposta a quella delle strutture del mesofillo di riflettere le radiazioni nella banda del vicino infrarosso (700 – 1000nm). Dal momento che la quantità di clorofilla e mesofillo varia al variare dello stadio fenologico, sono stati costruiti degli indici di vegetazione (NDVI Normalized Difference Vegetation Index) sulla base delle riflettanze entro le bande.

Gli indici di vegetazione sono degli indici spettrali adottati nel telerilevamento per le superfici vegetate, ed hanno lo scopo di quantificare la copertura erbacea ma anche di stimare gli specifici costituenti della vegetazione quali pigmenti, proteine e la presenza di acqua. La maggior parte degli indici vegetazionali sono basati sull'incremento di riflettanza nella vegetazione che avviene intorno a 700 nm caratteristico della vegetazione del verde, non riscontrabili nelle altre superfici naturali che invece presentano un basso cambiamento di riflettanza a lunghezze d'onda oltre questa regione. L'indice NDVI si ottiene dividendo la differenza di riflettanza tra le due bande per la loro somma:

$$\text{NDVI} = \frac{(\text{NIR} - \text{VIS})}{(\text{NIR} + \text{VIS})}$$

dove VIS e NIR stanno rispettivamente per le misure di riflettanza spettrale acquisite nelle regioni visibile (rosso) e nel vicino infrarosso.

I dati tele rilevati e l'indice NDVI sono stati utilizzati per diversi scopi fra cui quello di determinare e mappare dal punto di vista quali-quantitativo le aree di pascolo (Argenti et al, 2011; Mueller et al., 2008; Pettorelli et al, 2011; Ranghetti et al, 2014). Infatti, considerando che la riflettanza è espressione dello stadio di maturazione della pianta ad ogni stadio corrisponde una qualità nutrizionale caratteristica. In effetti, ciò che determina le proprietà dello spettro vegetazionale, soprattutto nelle lunghezze d'onda del visibile, è la composizione chimica: di fondamentale importanza sono la concentrazione dei pigmenti fotosintetici (specialmente la clorofilla), dei carotenoidi e dei flavonoidi. Il pigmento dominante, la clorofilla, ha il suo massimo di assorbimento nel rosso e nel blu, i carotenoidi nel blu-verde, le altre componenti strutturali come le proteine e la lignina hanno un caratteristico spettro nell'infrarosso. L'acqua ha, invece, una predominanza di assorbimento nello spettro del medio infrarosso (1450-2500 nm) ciò determina una riflettanza inversamente proporzionale al contenuto in acqua. Proteine, cellulosa e lignina contribuiscono all'assorbimento nelle bande dell'infrarosso.

La differente composizione dei pigmenti determina quindi lo spettro caratteristico della vegetazione e potrebbe essere usata per stimare alcune caratteristiche chimiche (cellulosa, lignina, acqua) nello spettro visibile (colore) e nel vicino infrarosso tramite il NIRs.

CAPITOLO 4

BIBLIOGRAFIA DELLA PARTE INTRODUTTIVA

- Acciaioli A., Esposito S., 2010. Il funzionamento dell'ecosistema pastorale In: La gestione e il recupero delle praterie dell'Appennino settentrionale, il pascolamento come strumento di tutela e salvaguardia della biodiversità.. Ed. ARSIA ISBN 978- 88-8295-121-1 pp: 21-29.
- Acciaioli A., Tellini Florenzano G., Parrini S., 2014. Il paesaggio agro-zootecnico e silvo-pastorale dell'Appennino Pistoiese. In Ronchi B., Pulina G., Ramanzin M., 2014. Il paesaggio agrozootecnico Italiano. Ed Franco Angeli: 77-96.
- Antongiovanni M., Gualtieri M., 2002. Nutrizione e alimentazione animale. Ed agricole (BO). Archivos de zootecnia, 52, 198, 231- 235
- Argenti G., Bottai L., Chiesi M., Masselli F., Staglianò N., Targetti S., 2011. Analisi e valutazione dei pascoli montani attraverso l'integrazione dei dati multispettrali e ausiliari. Italian Journal of Remote Sensing, 43 (1): 45-57.
- Arzani H., Basiri M., Khatibi F., Ghorbani G., 2006. Nutritive value of some Zagros Mountain rangeland species. Small Ruminant Research 65: 128-135.
- Autori vari, 1992 La Conferenza Internazionale su Ambiente e Sviluppo di Rio de Janeiro.
- Autori vari, 2002. Risorse genetiche animali autoctone della Toscana ARSIA:11
- Autori vari, 2009. Analisi in luce. Lab e spettroscopia, VEDI NUMERO:42-46.
- Avondo M., Bordonaro S., 2001. L'ingestione alimentare. In: Pulina G., 2001. L'alimentazione degli ovini da latte. Avenue media, Bologna:89-109.
- Baars T., Wagenaar J.P., Padel S., Lockeretz W., 2006. Il ruolo degli animali nei sistemi agricoli: una prospettiva storica. In: Vaarst M., Roderick S., Lund V. Lockeretz W., 2006. Salute e benessere animale in agricoltura biologica, Edagricole:12-13
- Baldoni R., Giardini L. , 2002. Coltivazioni erbacee - Foraggiere e Tappeti erbosi. Pàtron Editore.
- Barnes R. J., Dhanoa M. S., Lister S. J., 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. Applied Spectroscopy, 43(5): 772-777.
- Barton F.E. II & Windham W.R., (1988). Determination of acid detergent fibre and crude protein in forages by near infrared reflectance spectroscopy: collaborative study. Journal of the Association of Official Analytical Chemists 71: 1162-1167.
- Beth de Ondarza M., Ward R., 2013. Accurate analysis: NIRS versus wet chemistry. Hoard and Sons Company, Fort Atkinson, Wisconsin:129.
- Biondi E., Ballelli S. 1995. Le praterie del Monte Coscerno e Monte di Civitella (Appennino umbro-marchigiano - Italia centrale). Fitosociologia, 30: 91-121.
- Biondi E., Ballelli S., Allegrezza M., Zuccarello V., 1995a. La vegetazione dell'ordine Brometalia erecti Br.-BI. 1936 nell' Appennino (Italia). Fitosociologia, 30:3-45
- Birth G.S., Hecht H.G., 1987. The physics of near-infrared reflectance. In: Williams, P., Norris, K., Eds., Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 1-15.
- Bittante G., Andreghetto I., Ramanzin M.,1990. Fondamenti di zootecnica. Liviana Editrice.
- Bokobza L., 2002. Origin of near-infrared absorption bands, in:H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise Eds., NearInfrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications,Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 11 - 41.

- Borgioli E., 1961. Nutrizione e alimentazione degli animali domestici. Edagricole Bologna, pp: 464.
- Boscarol M., 2008. Scienza del colore: Colorimetria. Internet: www.boscarol.com
- Bruinenberg M. H., Valk H., Korevaar H., Struik P. C., 2002. Factors affecting digestibility of forages from semi-natural grasslands. – *Grass and Forage Science* 57: 292-301.
- Burger T., 1998. Radiative transfer in disperse media: new procedures in spectroscopic infrared analysis, PhD thesis, Würzburg/Germany Andrés, S., Giráldez F.J.
- Buxton D.R., 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* 59: 37-49.
- Casanova P. 1980. Risorse foraggere e fauna selvatica. *L'Italia agricola*, 117: 151-161.
- Cavallero A., Rivoira G., Talamucci P., Baldoni R., Giardini L., 2002. Pascoli. In *Coltivazioni erbacee, foraggere e tappeti erbosi*. Pàtron Editore, Bologna, pp: 239-280.
- Chapin F.S., Zaveleta S.E., Eviner T.V., Naylor R.L., Vitousek P.M., Reynolds L.H., Hooper U.D., Lavorel S., Sala E.O., Hobbie E.S., Mack C.M., Diaz S., 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405: 234-242.
- Charles O.W., Shenk J.S., 1986. Further studies of near diffuse reflectance spectroscopy. Proc. Georgia Nutrition Conference for the feed Industry. University of Georgia, Athens: 112-120.
- Charles T. R., Donald E. S., Wouter V.H., 1995. Adaptation of ruminants to browse and grass diets: are anatomical-based browser-grazer interpretations valid?, *Oecologia* 103:208-213
- Chen J. Y., Iyo C., Terada F., Kawano S., 2002. Effect of multiplicative scatter correction on wavelength selection for near infrared calibration to determine fat content in raw milk. *Near Infrared Spectroscopy*, 10: 301–307.
- CIE Commission Internationale de l'Eclairage, 1986- Colorimetry CIE Publication n.152, Commission Internationale de l'Eclairage Vienna. www.cie.co.at/cie/index.html.
- Ciurczak E. W., 2001. Principles of near-infrared spectroscopy. In: D.A. Burns, E.W. Ciurczak Eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 2nd edition, Marcel Dekker Inc., New York/Basel, 7–18.
- Clark G.L., 1960. *The encyclopedia of spectroscopy*. Reinhold, New York.
- Connor W.E., 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71:171s-175s.
- Conzen, J.P. 2006. *Multivariate calibration, a practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry*. Ettlingen, Germany: Bruker Optik GmbH.
- Costanza R., D'Arge R., de Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O'Neil R.V., Aruelo J., Rasin Sutton R.G., Van Den Belt M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387: 253-260.
- Cozzi G., Franceschin E., Segato S., 2014. Stato dell'arte del settore lattiero-caseario alpino e il progetto green grass dairy. *Quaderno SOZOOALP* 8 : 11-22.
- D'Mello J. P. F., 2004. Contaminant and toxins in animal feeds. Assessing quality and safety of animal feeds FAO n°160, Roma. Pagg: 107-126
- Daget P., Godron M. 1995. *Pastoralisme: troupeaux, espaces et sociétés*. Paris: Hatier. 510 pp.
- Dahm T., Manske D., Tewordt L., 2001. Cooper pair and spin fluctuations in underdoped high-temperature superconductors. *Europhysics Letters* 55 (1) , pp. 93-99.14.
- Dale L. M., Thewis A., Rotar I., Boudry C., Păcurar F. S., Lecler B., Agneessens R., Dardenne P., Baeten V., 2013. Fertilization Effects on the Chemical Composition and *In vitro* Organic Matter Digestibility of Semi-natural Meadows as Predicted by NIR Spectrometry. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41(1): 58-64.

- Dan Undersander, 2006. Uses and Abuses of NIR for Feed Analysis Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville
- Dan Undersander, 2006. Uses and Abuses of NIR for Feed Analysis Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville.
- Dardenne P., 2010. Some considerations about NIR spectroscopy: Closing speech at NIR-2009. NIR news, 21 (1): 8–14. doi: <http://dx.doi.org/10.1255/nirn.1165>
- De Boever J.L., Eeckhout W., Boucque C.V., 1994. The possibilities of near infrared reflectance spectroscopy to predict total-phosphorus and phytase activity in vegetable feedstuffs. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 42: 357-369.
- Demarquilly C., 1982. Influences des facteurs climatiques sur la composition et la valeur nutritive de l'herbe. In *Action du climat sur l'animal au pastorage*. INRA, pp:49-64
- Ditchburn R.W., 1965. *Light*, 2nd Ed. Blackie, London UK.
- FAO, 2000. World watch list for domestic animal diversity. 3rd Ed. FAO, Rome Italy:726
- FAOSTAT, 2013 Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Statistic Division, Resources- Land. <http://faostat.fao.org/site/377/default.aspx#ancor>
- Forbes J.M., 1995. Voluntary food and diet selection in farm animals. Ed CAB International Wallingford (UK).
- Ford A., Roberts A. 1998. "Color space conversions". Internet: 189-217. http://www.vorlesungen/graphik/info/csc/COL_2.htm#topic1
- Frame J. 1993. Herbage mass. In: Davis A. et al. eds. *Sward measurement handbook*. 2nd Edition. Reading: British Grassland Society. 39-67.
- Francia N., Santucci D., Pistella I., Alleva E., Pignatti S., 2005. Aree protette, rarefazione della biodiversità e rischio ecotossicologico. In Pignatti S., *Biodiversità ed aree naturali protette*. Ed ETS, Firenze.
- Garcia-Ciudad A., Garcia-Criado B., Perez-Corona M.E., Vázquez de Aldana B.R., Ruano-Ramos A, 1993. Application of near infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63: 419–426 .
- Geladi P., McDougal D., Martens H., 1985. Linearization and scatter correction for near infrared reflectance spectra of meat. *Application Spectroscopy*, 39:491–500.
- Giardinii L., Vecchietini M., 2002. Generalità sulle colture da foraggio. In: *Coltivazioni erbacee*. 2, Vol. III, Foraggiere e tappeti erbosi. Patron Editore, Bologna.
- Ginger Reverdin S., 1995. Review of methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 55: 295-334.
- Ginger Reverdin S., 1995. Review of methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 55: 295-334.
- Givens D.I., De Boever J.L., Deaville E.R., 1998. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews* 10: 83-114.
- Goldshleger N., Chudnovsky A., Ben-Binyam R., 2013. Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. *International Journal Remote Sensing* 34: 6079–6093.
- Goldshleger, N.; Chudnovsky, A.; Ben-Binyam, R. 2013, Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. *Int. J. Remote Sens.* 34, 6079–6093.
- Guretzky J.A. et al., 2007b *Agriculture, Ecosystem Environment* 122:3 pp 387-391
- Hansson M., Fogelfors H., 2000. Management of a semi-natural grassland: results from a 15-year-old experiment in southern Sweden. *Journal of Vegetation Science* 11: 31-38.
- Herschel, 1800. Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun. Royal Society, *Phil. Transact. Roy. Soc.* 90, 284-292
- Hodgson J., 1985. The control of herbage intake in grazing ruminant. *Proc. Nutr. Soc.*, 44: 339-346.

- Hofmann R.R., 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78:443-457
- Hofmann R.R., 1985. Digestive physiology of the deer. Their morphophysiological specialisation and adaptation. In: Fennessy P.F. & K.R. Drew (eds). *Biology of Deer Production*. The Royal Society of New Zealand, Bulletin, 22: 393-407.
- Ianelli P., 1989. *Alpicoltura*. Ed. Reda
- INRA, 1988. *Alimentation des Bovins, Ovins and Caprins*. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, France.
- ISTAT, 2011. 6° Censimento Generale dell'Agricoltura http://dati.istat.it/Index.aspx?DataSetCode=DCSP_COLTIVAZ
- Jenisch T.O., Paul C. Kunze C., 1994. Application of the near infrared reflectance spectroscopy for the feedstuff analysis of tropical forage plants. *Angewandte Botanik* 68:127-135.
- Khamen S., Poschlod P., Schreiber K.F., 2002. Conservation management of calcareous grasslands. Changes in plant species composition and response of functional traits during 25 years. *Biological Conservation* 104: 319-328.
- Klein Goldewijk K., 2001. Estimating global land use change over the past 300 years: The HYDE Database. *Global Biogeochem., Cycle* n. 15, 417-433pp;
- Kooistra L., Wehrens R., Leuven R. S. E. W., Buydens L. M. C., 2001. Possibilities of visible-near-infrared spectroscopy for the assessment of soil contamination in river floodplains. *Analytica Chimica Acta*, 446: 97-105.
- Kumar R., 1992. Anti-nutritional factors. The potential risks of toxicity and methods to alleviate them. In: *Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock* (A Speedy and J L Pugliese ed.) FAO Animal Production and Health Paper 102
- Kusumo B. H., Hedley C., Hedley M., Hueni A., Tuohy M., Arnold G., 2008. The use of diffuse reflectance spectroscopy for in situ carbon and nitrogen analysis of pastoral soils. *Australian Journal of Soil Research*, 46 (6-7):623-635. doi:10.1071/SR08118
- Laska G. (2001), The disturbance and vegetation dynamics: a review and an alternative framework. *Plant Ecology* 157: 77-99.
- Leiber F., Jouven M., Martin B., Priolo A., Coppa M., Prache S., Heckendorn, Baumant R., 2014. Potentials and challenges for future sustainable grassland utilization in animal production. In *Option Méditerranéennes*, A, no. 109, 2014. Forage resources and ecosystem services provided by Mountain and Mediterranean grassland and rangelands pp: 33-47.
- Lemaire G., Wilkins R., Hodgson J., 2005. Challenges for grassland science: managing research priorities. *Agriculture Ecosystem & Environment* n. 108, 99-108pp;
- Leps J., 1999. Nutrient status, disturbance and competition: an experimental test of relationships in a wet meadow. *Journal of Vegetation Science* 10: 219- 230.
- Lu C.D. ,1988. "Grazing behavior and diet selection of goats". *Small Ruminant Research*, 1, 205-216.
- Maleki M.R., Mouazen A.M., Ramon H., De Baerdemaeker J., 2007. Multiplicative Scatter Correction during On-line Measurement with Near Infrared Spectroscopy *Biosystems Engineering* 96 (3), 427-433 doi:10.1016/j.biosystemseng.2006.11.014
- Martelli G., 1997. Proteina ideale la ricerca continua. *Riv. di suinocoltura*, 6, 37-45.
- McCormik J., 1968. Vegetation in fallowed vineyards. *Ohio Journal of Science*. 68: 1-11.
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., 1992. *Nutrizione Animale . Ed Tecniche alimentari*: 209-230, 334-340, 376-385.
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A., Sinclair L.A., Wilkinson R.G., 2011. *Animal Nutrition*. Ed. 7 Pearson: 481-498.

- Martelli P., 1987. Fattori antinutrizionali degli alimenti. Ist. Clinica Veterinaria. Università di Parma.
- Miller C.E., 2001. Chemical Principles of Near-infrared technology, in “Near-infrared technology in the Agricultural and food industry”, 2nd edition, American Association of cereal chemist, st. Paul, Minnesota, USA.
- Moreira F., Pinto M.J., Henriques I., Marques T. Importance of low-intensity farming systems for fauna, flora and habitats protected under the European “Birds” and “Habitats” directives: is agriculture essential for preserving biodiversity in the Mediterranean region? In: Burk A.R. (ed). Trends in biodiversity research. 2005. Nova Science Publishers, New York, pp. 117-145.
- Mueller T. B., Olson K. D, Fuller T., Schaller G., Murray M., Leimgruber P., 2008. In search of forage: Predicting dynamic habitats of Mongolian gazelles using satellite-based estimates of vegetation productivity, *Journal of Applied Ecology*, vol. 45, 2: 649–658.
- Mueller T. B., Olson K. D, Fuller T., Schaller G., Murray M., Leimgruber P., 2008. In search of forage: Predicting dynamic habitats of Mongolian gazelles using satellite-based estimates of vegetation productivity, *Journal of Applied Ecology*, 45, 2: 649–658.
- Murray I., 1988. Aspect of interpretation of NIR spectra. In: Creaser C.S., Davies A.M.C. Ed. *Analytical Applications of Spectroscopy*. Royal Society of Chemistry, London, UK: 9-20.
- Murray I., Hall P.A., 1983. Animal feed evaluation by use Near Infrared reflectance. *Anal. Proc Royal Soc. Chemistry* 20:75-79.
- Murray, I., Williams, P.C., 1987. Chemical principles of nearinfrared technology. In: Williams, P., Norris, K. (Eds.), *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN: 17–34.
- Nastis A., 1996. Feeding behaviour of goats and utilisation of pasture and rangelands. 6th International Conference on Goats, Beijing (China), 6-11 May 1996
- Noblet J., Perez J.M., 1993. Prediction of digestibility of nutrients and energy values of pig diets from chemical analysis. *Journal of Animal Science*, 71, pp:3389-3398.
- Oleari C., 1996. Spazio del colore, diagrammi di cromaticità e problemi di non uniformità di scala. *Notizienostre*, 154: 31-36.
- Olinger J.M. et al. 2001 Theory of diffuse reflection in the NIR region. In: Burns D.A., Ciurczak E.W., Eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 2nd edition, Marcel Dekker Inc., New York/Basel, pp. 19-51
- Pardini A., 2006. Gestione dei pascoli e dei territori pascolivi. Ed. Arance:35-36
- Pärtel ., Bruun H.H., Sammuli M., 2005. Biodiversity in temperate European grasslands: origin and conservation. In R. Lillak, R. Viiralt, A. Linke, V. Geherman, Integrating efficient grassland farming and biodiversity, *Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation*, Tartu, Estonia 29-30 August 2005.
- Pazdernik D.L. Killam A.S., Orf J.H., 1997. Analysis of amino and fatty acid composition in soybean seed *Agronomy Journal* 89:679-685.
- Pérez Corona M. E., García Criado B., Vázquez de Aldana B. R., García Ciudad A., 1994. Effect of topographic and temporal (maturity) gradients on the nutritive quality of semiarid herbaceous communities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25: 2047-2061.
- Pérez-Corona M. E., Vázquez de Aldana B. R., Garcia-Criado, B., Garcia-Ciudad A., 1998. Variations in nutritional quality and biomass production of semiarid grasslands. *Journal of Range Management* 51: 570–576.
- Pettorelli N., Pelletier F., Von Hardenberg A., Festa-Bianchet M., Côté S., 2007. Early onset of vegetation growth vs. rapid green-up: Impacts on juvenile mountain ungulates. *English, Ecology*, 88, 2, 381–390.

- Pettorelli N., Ryan S., Mueller T., Bunnefeld N., Jedrzejewska B., Lima M., Kausrud K., 2011. The Normalized Difference Vegetation Index (NDVI): Unforeseen successes in animal ecology, *Climate Research*, 46, 1: 15–27.
- Pettorelli N., Vik J., Mysterud A., Gaillard J.M., Tucker C., Stenseth N., 2005. Using the satellite-derived NDVI to assess ecological responses to environmental change. *English, Trends in Ecology and Evolution*, 20, 9, 503–510.
- Pignatti S., 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.
- Pugliese C., Sirtori F., Pinacciaioli L., Franci O., Acciaioli A., Bozzi R., Campodoni G., 2006. Effect of rearing system on meat quality and on fatty acid composition of subcutaneous fat in Cinta Senese pigs. In: Ramalho Ribeiro J.M.C., Horta A.E.M., Mosconi C., Rosati A. *Animal products from the Mediterranean area*, EAAP publication No. 119, pp. 289-293, Wageningen: Wageningen Academic Publishers, ISBN:9789076998862.
- Pugliese C., Acciaioli A., Rapaccini S., Parisi G., Franci O., 2000. Evolution of chemical composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Massese ewes. *Small Ruminant Research* 35, 71-80.
- Pugliese C., Pinacciaioli L., Sirtori F., Acciaioli A., Bozzi R., Franci O. 2007. Effect of pasture on chestnut wood on meat quality and fatty acid composition of fat in Cinta Senese pigs. *Options Méditerranées. Séminaires Méditerranées*, vol. 76, pp. 263-267, ISSN:1016-121X
- Ranghetti L., Bassano B., Bogliani G., Von Hardenberg A., 2014. Estimation of nutritional properties of alpine grassland from MODIS satellite data; in : Ranghetti L., 2014. Using remotely sensed estimators to detect temporal trends of ecological predictors: the cases of nutritional content of alpine grasslands and water management in ricefields, pp: 31 <http://ecoeto.unipv.it/ranghetti>.
- Redshaw E.S., Mathison G.W., Milligan L.P., Weisenburger R.D., 1986. Near IR reflectance spectroscopy for predicting forage composition and voluntary consumption and digestibility in cattle and sheep. *Can. Journal Animal Science*, 66:103-116
- Reeves J.B., 1988. Near IR reflectance spectroscopy analysis of sodium chlorite-treated forages and other plant materials. *Journal of Dairy Science* 71:143-151.
- Reeves J.B., 1994. Use of near infrared reflectance spectroscopy as tool for screening treated forages and by-products. *Journal Dairy Science*, 77: 1030-1037.
- Rieder J., Diercks R., Klein W., 1983. *Prati e pascoli*. Liviana Editore, Padova.
- Rivoira G., Roggero P., Bullitta S.M., 1989. Influenza delle tecniche di miglioramento dei pascoli sui fenomeni erosivi dei terreni in pendio. *Rivista di agronomia*, Vol. 23 (4).
- Roberts C.A., Workman J., Reeves J.B., 2003. Near Infrared Spectroscopy in Agriculture. *Agronomy*, 44. Ed. Madison USA: 3-31, 231-267, 411-438.
- Roggero P.P., Bagella S., Farina R., 2002. Un Archivio dati di Indici specifici per la valutazione integrata del valore pastorale. *Rivista di agronomia*, Vol. 36 (2), p. 149-156.
- Ronchi B., 1988. *Zootecnia nelle regioni di montagna*, Alpicoltura II. Athena Editrice Roma: 33, 76-84.
- Rossato O.G., 2011. *Caratteristiche della produzione di pascoli dell'altopiano dei Sette Comuni (Vicenza)*. Tesi di dottorato di ricerca, Università degli studi di Padova.
- Rounsevell M. D. A., Ewert F., Reginster I., Leemans R., Carter T. R., 2005. Future scenarios of European agricultural land use. *Agriculture Ecosystem & Environment* n. 107, 117-135pp;
- Rounsevell M.D.A., Annetts J.E., Audsley E., Mayrc T., Reginster I., 2003. Modelling the spatial distribution of agricultural land use at the regional scale. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 95: 465-479.
- Russo D. 2007. Effects of land abandonment on animal species in Europe: conservation and management implications. *Integrated Assessment of vulnerable ecosystems under*

- global change in the European Union. European Commission, Directorate - General for Research Environmen. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.
- Sabatini S., Argenti G., Staglianò N., Talamucci P. Effetti della presenza del bosco in aree pascolive infraforestali alpine. 2000. *Rivista di Agronomia*, 34: 196-199.
 - Sanderson M.A., Skinner R.H., Barker D.J., Edwards G.R., Tracy B.F., Weding D.A., 2004. Plant species diversity and management of temperate forage and grazing land ecosystems. *Crop Science*, 44: 1132-1144.
 - Sapia F. C., Benvenuti V., 2011. *Le piante foraggere. Per una gestione sostenibile del terreno e il mantenimento e ripristino dei pascoli*. Roma, Ed. Armando:82.
 - Scollan N., Hocquette J.F., Nuernemberg K., Dannenberger D., Richardson I., Moloney A., 2006. Innovation in beef production system that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* 74, 17-33.
 - Secchiari P., 2014. *Alimenti di origine animale e salute*. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche Brescia. ISBN 978-88-97562-09-2
 - Shenk J.S., 1992. NIRS analysis of natural agricultural product. In: Hildrum K.I., Isaksson T., Naes T., Tandberg A. Ed. *Near Infrared Spectroscopy: Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications*. Ellis Horwood, Chichester, UK, : 235-240.
 - Shenk J.S., Westerhaus M.O., 1996. Calibration the ISI way. In: Davies, A.M.C., Williams P., *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, West Sussex, UK, 198–202.
 - Sinelli, 2008. La spettroscopia NIR: cos'è e quando applicarla. *Lab cromatografia e spettroscopia* : 42-45.
 - Smith T.M., Smith L.R., 2009. *Elementi di ecologia*. Ed PEARSON Benjamin Cummings, Milano.
 - Staglianò N., Sabatini S., Albertosi A., Melani C., 2002. Gestione delle praterie naturali di alta quota sottoposte a utilizzazione non equilibrata. 14pp. Workshop: Conservazione delle praterie montane dell'Appennino. La Verna (AR), 19-20 marzo 2002.
 - Superchi P., Baratta C., Beretti V., Sabbioni A., 2007. Caratteristiche nutritive di prati-pascoli dell'Appennino Parmense. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma*, Vol. XXVII: 189-198.
 - Talamucci P., 1980. Tetativi di applicazione di un metodo di determinazione del carico dei pascoli. *Atti convegno: Le possibilità delle colture e degli allevamenti nei territori alpini*. S.Vincent e Torino.
 - Tallowin J.R.B., Jefferson R.G., 1999. Hay production from lowland seminatural grassland: a review of implications for livestock system. *Grass and Forage Science* 54:99-115.
 - Tappeiner U., Cernusca A., 1993. Rapporti dinamici fra pascoli abbandonati e bosco. Risultati delle ricerche svolte nell'ambito del programma austriaco MaB e del progetto CEE-STEP-INTEGRALP. *Comunicazioni di ricerca, ISAFA*, n. 1, 67-80pp;
 - Tilman D., 2000. Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature* 405: 208-211.
 - Tinarelli R., Bonora M. , Balugani M. (eds). *Atlante degli Uccelli nidificanti nella Provincia di Bologna (1995-1999)*. 2002. Comitato per il Progetto Atlante Uccelli Nidificanti nella Provincia di Bologna, Ecosistema, Imola (BO), CD-Rom.
 - Valencia I., O'Grady M.N., Ansorena D., Astiasarán I., Kerry J.P., 2008. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Science*, 80(4): 1046-54.
 - Vallentine J. F., 1990. *Grazing management*. San Diego: Academic Press Inc.
 - Vallentine J.F., 1988. *Range development and improvements*. Academic press Inc., San Diego USA: 524.

- Van den Pol-van Dasselaar A., Vellinga T.V., Johansen A., Kennedy E., 2008. To graze or not to graze, that's the question. Biodiversity and Animal Feed. Future challenges for Grassland Production. EGF 2008 Meeting, Uppsala, Sweden. Vol 13, 706-716pp;
- Van Kempen T., 2001. Infrared technology in animal production Word's Poul Science Journal 57:29-48.
- Van Putten G., 2000. An ethological definition of animal welfare with special emphasis on pig behaviour. In: Hovi M., Trujillo R.G. (2000) Diversity of Livestock System and Definition of Animal Welfare. Proceedings of the Second NAHWOA Workshop, Cordoba:120-134
- Vázquez de Aldana B. R., García Ciudad A., Pérez Corona M. E., García Criado B., 2000. Nutritional quality of semi-arid grassland in western Spain over a 10-year period: changes in chemical composition of grasses, legumes and forbs. Grass and Forage Science 55: 209-220.
- Vecchio V., Pardini A., Pratesi V., Staglianò N., 2008. Composizione botanica e sostanze traccianti di alcuni pascoli toscani. II Conferenza CeRA - Qualità e Tipicità dell'Alimento: alla ricerca del benessere. <http://www.cera.unifi.it/CMpro-v-p-127.html>
- Velazquez B., 2001. Il concetto di multifunzionalità in agricoltura: una rassegna, La Questione Agraria, 3.
- Velazquez B., 2001b. Alcune questioni rilevanti intorno al concetto di multifunzionalità in agricoltura, Roma, INEA, (<http://www.inea.it/prin/risultati/VelazquezWP8.pdf>). Velev N., Apostolova I., 2008. Successional changes of *Nardus stricta* communities in the central Balkan Range (Bulgaria). Phytologia Balcanica 14: 75-84.
- Vertes F. 1988. Interets de l'approche phytosociologique pour l'estimation des ressources fourragères d'un territoire. Coll. Phytosoc., 16:379-393.
- Walford, J., 1980. Developments in food colours-1: Food Colorimetry. Applied Science Publishers, LTD London: 29-32
- Wang W., Pailwal J., Jayas D. S., 2004. Determination of moisture content of ground wheat using near-infrared spectroscopy. ASAE/CSAE Meeting Presentation, Paper No. MB04-200, ASAE, St Joseph, MI
- Watkinson A.R., Ormerod S.J., 2001. Grassland, grazing and biodiversity: editors' introduction. Journal of Applied Ecology 38: 233-237.
- Weyer L., Lo S.-C., 2002. Spectra-Structure Correlations in the Near-infrared," In Handbook of Vibrational Spectroscopy, Volume 3, Wiley, U.K., , pp. 1817-1837.
- Williams P. C., Sobering D., 1995. How do we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. In Daves A. M. C., Williams P., C. (Eds.), Near infrared spectroscopy: The future waves Chichester.UK: NIR Publications: 185-188.
- Williams P.C., 2001 Implementation of near-infrared technology. In Williams, P., and K. Norris (ed.) Near-Infrared technology in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists (AACC), St. Paul, Minnesota, USA: 145-169.
- Williams P.C., Norris K.H., 1988. Near Infrared Reflectance Technology in the agricultural and food industry. American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, Minnesota. p. 1-143.
- Wilson E.O., 1999. Biodiversità. La violenza della natura, la resistenza della vita, Biblioteca Scientifica Sansoni, Milano.
- Workman J. 2001. Handbook of Organic Compounds: NIR, IR, Raman, and UV-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants, Volume 1, Academic Press.
- Zavaleta E.S., Pasari J.R., Hulvey K.B., Tilman D. , 2009. Sustaining multiple ecosystem functions in grassland communities requires higher biodiversity. Ecology 107: 1443-1446.

- Ziliotto U., Andrich O., Lasen C., Ramanzin M., 2004b. Trattati essenziali della tipologia veneta dei Pascoli di monte e Dintorni. Regione del Veneto, Accademia Italiana di Scienze Forestali (Venezia). Seconda edizione.
- Ziliotto V., Scotton M. 1991. Metodi di rilevamento della produttività dei pascoli alpini. ISAFSA Comunicazioni di ricerca-Seminario di studio sui pascoli alpini. Villazzano (Trento) 19-21 novembre 1991. 9311:21-32.
- Zilotto U., Scotton M., Da Ronch F., 2004. Il sistema delle malghe alpine: aspetti agro-zootecnici, paesaggistici e turistici. Quaderni SoZooAlp. http://www.biozootec.it/Default.aspx?PAGE=pascoli_alpini

PARTE SPERIMENTALE

CAPITOLO 5

5. SCOPO

Lo scopo generale di questo studio è quello di approfondire le attuali conoscenze relative al valore nutrizionale delle erbe dei pascoli naturali utilizzando metodologie innovative a fianco di quelle tradizionali. L'obiettivo sarà raggiunto attraverso una sperimentazione che considera diversi aspetti, affrontati rispettivamente con le tre sperimentazioni seguenti:

1. Caratterizzazione chimico nutrizionale dei pascoli naturali della Toscana.

Questo studio si pone l'obiettivo di approfondire la conoscenza della variabilità delle caratteristiche dell'erba dei pascoli in termini di composizione chimica, valore nutritivo e produttività, prendendo in considerazione varie aree pascolive della Toscana. Per le erbe dei pascoli naturali del territorio indagato non sono disponibili dati in grado di fornire agli operatori del settore notizie sufficienti a stimare gli apporti nutritivi e utilizzarli nei piani alimentari per gli animali in produzione zootecnica. La stima del valore nutritivo dei foraggi proposta dai sistemi più recenti richiede, inoltre, una serie di determinazioni analitiche che negli anni passati non erano previste e, quindi, la base di dati in possesso degli operatori risulta inadeguato e insufficiente.

Il lavoro si prefigge di realizzare tabelle informative sulla qualità delle erbe dei pascoli fornendo dati e risultati che, grazie ad un'opportuna chiave di lettura, possano essere trasferiti ad altre situazioni territoriali e contengano le informazioni necessarie a stimare il valore nutritivo con i metodi più recenti per una loro ottimizzazione nei piani alimentari.

2. Utilizzo della colorimetria per la valutazione della qualità dell'erba fresca dei pascoli

Lo studio ha lo scopo di valutare il colore come metodo di stima della composizione chimica e del valore nutrizionale delle erbe fresche dei pascoli della Toscana. La ricerca ha l'obiettivo sia di verificare l'esistenza di correlazioni tra i parametri nutrizionali dell'erba e le coordinate colorimetriche, sia di verificare la capacità predittiva del colore per la stima di tali parametri. L'erba, infatti, con l'avanzamento dello stadio fenologico subisce variazioni nella composizione chimica che causano modificazioni della struttura e, infine, del colore.

L'utilizzo della colorimetria per la stima delle caratteristiche nutrizionali dell'erba fresca dei pascoli si propone come tecnica innovativa, rapida, economica e, inoltre, applicabile direttamente in campo su larga scala.

3. Valutazione chimico-nutrizionale delle erbe di pascoli tramite NIRs

Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare la potenzialità della spettroscopia nel vicino infrarosso per la stima della composizione chimica e del valore nutrizionale delle erbe dei pascoli naturali della Toscana. Applicare il NIRs alla valutazione nutrizionale dei pascoli naturali significa verificare la possibilità di stimare le caratteristiche di risorse botaniche complesse, quali pascoli polifiti, che risultano giocoforza variabili per altitudine e stadio vegetativo con adeguato grado di accuratezza.

Questa ricerca, inoltre, considerando diverse modalità di preparazione dei campioni di erbe (essiccate e fresche; tagliate e macinate) in cui sono effettuate le letture spettrali, si pone

l'obbiettivo di individuare la metodica più rapida, economica e accurata per le successive determinazioni con il NIRs. Le metodologie tradizionali utilizzate per l'analisi delle caratteristiche chimiche degli alimenti sono ormai ben consolidate, ma richiedono tempi lunghi e costi elevati. L'applicazione del NIRS permetterebbe di ridurre i tempi e i costi per effettuare stime precise delle erbe pascolate nel momento della loro utilizzazione da parte degli animali e, di conseguenza, mettere a punto piani alimentari specifici per gli animali in produzione.

CAPITOLO 6

6. MATERIALI E METODI

6.1 Area d'indagine

Lo studio ha preso in considerazione pascoli naturali e naturalizzati, di alcune aree della Toscana in particolare quelle montane ove sono particolarmente diffusi i pascoli. Molti rilievi (58%) sono stati effettuati nella provincia di Arezzo, per la ricchezza di zone destinate all'allevamento estensivo degli animali (bovini da carne di razza Chianina) alimentati al pascolo. Di seguito è riportata la mappa (fig. 1), creata attraverso l'utilizzo delle coordinate di longitudine e latitudine, in cui sono individuati i punti di raccolta dei campioni di erba. Per ogni localizzazione sono stati effettuati più prelievi nell'arco della stagione vegetativa in modo da ottenere un'ampia variabilità dei dati in funzione di questo parametro.

Fig.1 Localizzazione dei prelievi di erba



6.2 Descrizione dell'erba del pascolo

In campo per ogni campione è stata compilata una scheda descrittiva in cui sono state raccolte le informazioni di seguito riportate:

- data
- azienda
- località dell'azienda
- nome del pascolo e localizzazione del prelievo (longitudine ed altitudine)
- tipo di pascolo: polifita naturale e polifita naturalizzato
- individuazione delle specie presenti e loro stadio vegetativo
- altezza media dell'erba (cm)

6.3 Prelievo dei campioni

Le aree di prelievo all'interno dei pascoli sono state individuate in modo tale che il campione risultasse il più possibile rappresentativo dell'area del pascolo. In caso di prati particolarmente poveri o dove la composizione floristica si presentava disomogenea sono stati effettuati più campionamenti al fine di rendere il dato maggiormente rappresentativo dell'intero pascolo. Il campione è stato ottenuto dallo sfalcio di erba per un'area di 1m^2 ed il taglio dell'erba è stato effettuato a circa 2 cm da terra al fine di simulare il livello corrispondente all'asportazione di fitomassa da parte degli animali.

Ad ogni campione di erba, posto in sacchetti di plastica asciutti, è stato assegnato un numero identificativo.

I campioni sono stati trasportati in laboratorio e conservati a una temperatura compresa fra 2-8°C per un massimo di 24 ore.

Il campione è stato pesato e calcolata la produzione ad ettaro (q/ha).

E' stata effettuata l'analisi floristica attraverso suddivisione e quantificazione delle tre diverse categorie: graminacee, leguminose e altre famiglie. Il campione complessivo è stato poi trinciato, reso omogeneo e suddiviso in aliquote da destinare alle diverse analisi.

CAPITOLO 7

PROVA 1:

CARATTERIZZAZIONE
CHIMICO NUTRIZIONALE
DEI PASCOLI NATURALI
DELLA TOSCANA

7. Caratterizzazione chimico nutrizionale dei pascoli naturali della Toscana

7.1 Materiali e metodi

Classificazione dei campioni

I pascoli in cui sono stati effettuati i prelievi sono n.54 per un totale di n.104 campioni prelevati durante tutto l'arco del periodo vegetativo e classificati in relazione a:

- altitudine:
 - montagna (M): aree localizzate a latitudine superiore a 500m s.l.m.;
 - collina-pianura (CP): aree localizzate a latitudine inferiore a 500m s.l.m.
- stadio vegetativo delle specie prevalenti:
 - levata (1): identificata nella fase che va dall'accestimento fino all'allungamento dei culmi con allontanamento delle foglie;
 - spigatura e prefioritura (2): identificata nella fase in cui l'infiorescenza è completamente differenziata e vi è la fuoriuscita dell'infiorescenza dalla guaina dell'ultima foglia del culmo;
 - fioritura e maturazione (3): identificata nella fase in cui vi è l'apertura dei fiori e la completa fuoriuscita della guaina delle antere dalle glumelle e la maturazione delle cariossidi.
- rapporto in peso tra graminacee e leguminose:
 - alta concentrazione di graminacee: più del 60% del campione
 - bassa concentrazione di graminacee: meno del 60% del campione

Analisi dei campioni

Analisi chimica

I campioni da sottoporre ad analisi chimica sono stati pre-essiccati, macinati con un molino elettrico con griglia di 1mm e resi omogenei. Sugli stessi campioni sono state eseguite l'analisi tipo e le frazioni fibrose secondo le metodiche di seguito riportate:

- tenore di sostanza secca (%) essiccazione tramite in stufa a 105°C (AOAC, 1990);
- proteina grezza (%) metodo Kjeldahl, tramite apparecchio Kjeltec 2100 Foss (AOAC,1990);
- lipidi grezzi (%), tramite apparecchio Soxhtec System Ht 1043 Extraction Unit (AOAC,1990);
- fibra grezza metodo Weende (%), attraverso Fibertec System 1021 Hot extraction (AOAC,1990);
- ceneri (%) tramite muffola a 600°C (AOAC,1990);
- estrattivi inazotati per differenza;
- Frazioni fibrose: fibra neutro detersa (NDF), fibra acido detersa (ADF), lignina (ADL) tramite l'apparecchio Fibertec System 1021e 1043 Hot and Cold extraction (Van Soest et al., 1991; 1994).

Calcolo del valore nutritivo

Il metodo preso in considerazione è quello proposto dal sistema francese dell'*Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA, 1988) per i ruminanti. Sono state utilizzate le equazioni aggiornate nella ultima versione (INRA, 2010) e sono state impiegate due metodiche per la stima della digeribilità della sostanza organica basate rispettivamente sul contenuto in fibra grezza secondo Weende e sulla fibra acido detersa secondo Van Soest.

I passaggi per la determinazione dell'Unità foraggiere latte e carne hanno previsto i seguenti calcoli:

$$EB = 4531 + 1,735 * MAT + \Delta$$

$$EM = EB * dE * (EM/ED)$$

$$EM / ED = (84,17 - 0,0099 * CBo - 0,0196 * MATo + 2,21 * NA) / 100$$

$$dE = 0,57dMO - 0,068$$

$$dMO = 90,1 - 0,95CB + 0,044MAT \quad (\text{con CB Weende})$$

$$dMO = 99,0 - 0,115ADF + 0,043MAT \quad (\text{con ADF Van Soest})$$

$$kl = 0,60 + 0,24(q - 0,57)$$

$$Km = 0,287q + 0,554$$

$$Kf = 0,78q + 0,006$$

$$Kmf = (km * kf * 1,5) / (kf + 0,5)$$

$$q = EM / EB$$

$$ENL = EM * kl$$

$$ENEV = EM * kmf$$

$$UFL/kg = ENL / 1700$$

$$UFC/kg = ENEV / 1820$$

in cui:

EB = energia grezza (g/kg) sul tenore di sostanza secca (%)

EM = energia metabolizzabile (kcal/kg)

EM/ED = Calcolo delle perdite di energia sotto forma di gas e urine

dE = digeribilità dell'energia in funzione della digeribilità della sostanza organica (g/kg)

MAT = proteina grezza (g/kg)

MATo = tenore in proteina grezza sulla sostanza organica (g/kg)

CB = fibra grezza (g/kg)

CBo = tenore in fibra grezza sulla sostanza organica (g/kg)

MS = sostanza secca (%)

NA = livello alimentare

ADF = fibra acido detersa (g/kg)

$\Delta = -71$ per i foraggi verdi di graminacee

$\Delta = -11$ per i trifogli, i prati di montagna

dMO = digeribilità della sostanza organica (g/kg)

dE = digeribilità dell'energia dell'alimento sulla sostanza secca (g/kg)

kl = coefficiente di utilizzazione dell'energia metabolizzabile per la lattazione e l'ingrasso

km = coefficiente di utilizzazione dell'energia metabolizzabile per il mantenimento

kf = coefficiente di utilizzazione dell'energia metabolizzabile per l'ingrasso

kmf = coefficiente di utilizzazione dell'energia metabolizzabile per il mantenimento e la produzione di carne

q = concentrazione in energia metabolizzabile dell'alimento

ENL (kcal/Kg) = Energia netta per la lattazione

ENEV (kcal/kg) = Energia netta per il mantenimento e la produzione di carne

UFL (kg) = unità foraggiere latte

UFV(kg)= unità foraggiere carne

Elaborazioni dei dati

I risultati relativi alle singole analisi sono stati raggruppati in base alle variabili considerate: altitudine, stadio vegetativo prevalente e composizione floristica.

Relativamente a ciascun gruppo sono stati costruiti grafici e tabelle per le caratteristiche esaminate, riportando media e deviazione standard.

Per valutare la variabilità dei risultati ottenuti sono stati creati i *boxplot* attraverso il programma R (R Core Team, 2013).

7.2 Risultati e discussione

La produttività dei pascoli, tenendo in considerazione lo stadio vegetativo dell'erba e l'altitudine è riportata in tabella 1 e nei grafici 1 e 2, ed è espressa in quintali/ha e U.F.L./ha.

Grafico 1 Produzione di erba espressa in q/ha sul tal quale in funzione di stadio vegetativo e altitudine

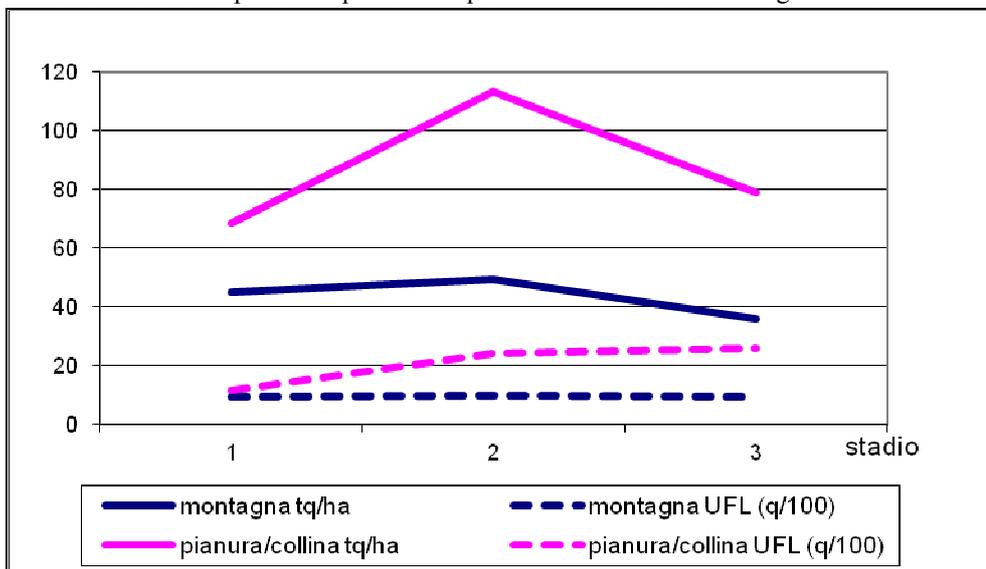


Grafico 2 Produzione di erba espressa in q/ha sulla sostanza secca in funzione di stadio vegetativo e altitudine

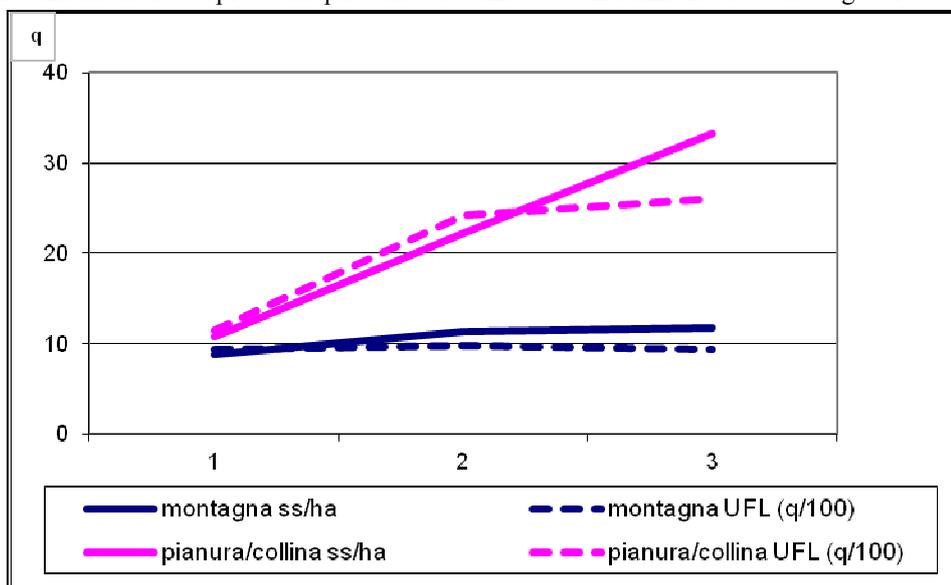


Tabella 1 Produzione di erba espressa in funzione di stadio vegetativo e altitudine

Parametro		Montagna			Collina-Pianura		
		Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3	Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3
	n	16	16	15	13	17	26
q/ha tq	media	45,29	49,29	35,85	68,36	113,33	79,16
	ds	19,33	25,63	26,50	40,96	70,36	46,81
q/ha ss	media	8,84	11,40	11,79	10,77	22,21	33,30
	ds	3,86	5,85	7,83	5,94	11,64	12,25
UFL/ha	media	936	979	934	1155	2424	261
	ds	419	582	638	638	1262	819
UFC/ha	media	867	882	804	1146	2211	1817
	ds	390	529	556	636	1264	591

Le produzioni di erba in collina-pianura sono risultate più elevate rispetto a quelle dei pascoli della montagna per tutti i parametri, all'interno delle variabili considerate. Per quanto riguarda la quantità di erba tal quale in entrambe le altimetrie considerate, i valori più bassi sono relativi all'inizio della stagione vegetativa mentre quelli più elevati si riscontrano nel periodo centrale, per poi diminuire nuovamente al termine di essa. Nel confronto tra localizzazioni si evidenzia tuttavia che tale picco risulta particolarmente elevato nelle localizzazioni di più bassa quota, dove si registrano valori medi superiori ai 100 quintali ad ettaro di erba, oltre il doppio rispetto della montagna che, d'altra parte, risulta più costante nel tempo. Questo è principalmente dovuto alla maggiore fertilità del suolo delle aree di collina-pianura e alla maggiore lunghezza del periodo vegetativo, favorito dalle temperature più miti.

La quantità di sostanza secca è il parametro che meglio descrive lo sviluppo dell'erba e presenta una crescita continua, di nuovo più marcata nei pascoli di bassa quota. La valutazione nutrizionale delle erbe, espressa in UFL e UFC, infine fornisce il dato di maggiore utilità applicativa in quanto mostra come l'aumento di quantità nella fase di maturazione tardiva viene completamente bilanciato dalla diminuzione della qualità, il valore nutritivo infatti si stabilizza a partire della fase 2. Questo effetto risulta più evidente nei pascoli di pianura, mentre i pascoli di montagna sembra che possano fornire valori più costanti di apporti nutrizionali, anche se di minor entità.

In conclusione i dati produttivi in termini di sostanza secca ottenuti mediamente nelle due localizzazioni sono di 43,3 q/ha in montagna e 88 q/ha per quelli di collina-pianura. La d.s. delle medie risulta sempre elevata e pari alla metà del loro valore per i pascoli di montagna, leggermente più omogenei appaiono i dati relativi alla localizzazione di bassa quota nella fase di maturazione avanzata delle erbe; e conferma la necessità di avere a disposizione un'ampia casistica dei dati di per l'areale preso in considerazione, al fine della loro utilizzazione in campo applicativo.

Nella tabella 2 e nel grafico 3 sono riportati rispettivamente i dati e l'andamento dell'altezza media delle specie erbacee prevalenti presenti nei pascoli in riferimento ai diversi stadi vegetativi e all'altitudine.

Grafico 3 Altezza media dell'erba espressa in cm in funzione di stadio vegetativo e altitudine

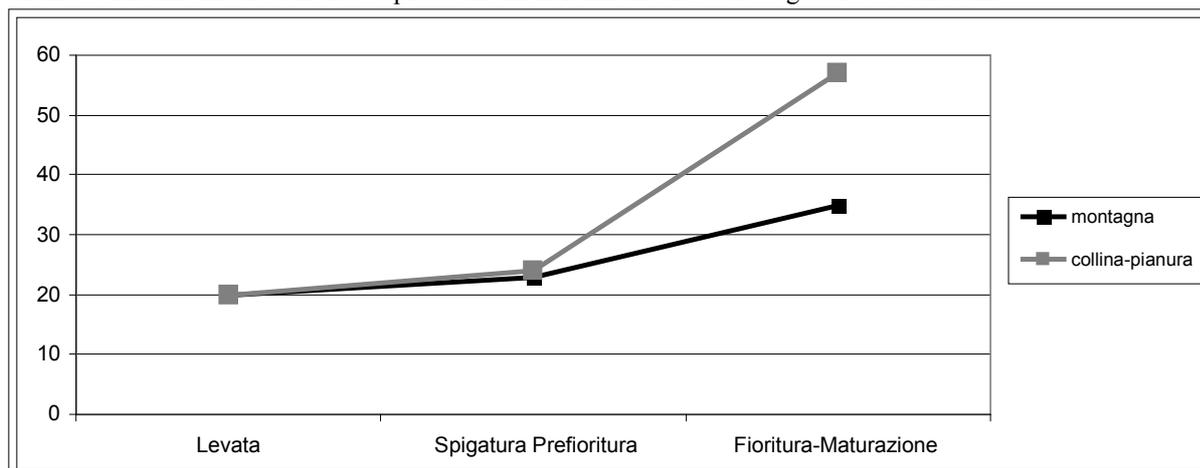


Tabella 2 Altezza media dell'erba espressa in cm in q/ha in funzione di stadio vegetativo e altitudine

Stadio vegetativo	Montagna			Collina-Pianura		
	Altezza (cm)	Ds	n	Altezza (cm)	ds	n
Levata	20	8,50	18	20	14,1	7
Spigatura Prefioritura	23	7,7	16	24	14,6	9
Fioritura Maturazione	35	23,13	15	57	22,5	5

L'altezza media aumenta in modo modesto dalla levata alla spigatura-fioritura ed in maniera elevata nel passaggio alla fase di fioritura-maturazione. Confrontando i grafici 1 e 3 si nota che a entrambe le quote altitudinali considerate l'andamento dell'altezza dell'erba non coincide con quella della quantità di fitomassa. Si deduce che la produttività ai diversi stadi vegetativi non è dipendente dall'altezza, ma piuttosto è associata alla densità e alla concentrazione di piante.

Relativamente ai pascoli della Toscana gli studi disponibili in bibliografia non contemplano la stima del valore nutrizionale delle erbe, tale parametro viene invece riportato in alcune ricerche svolte sui pascoli dell'arco Alpino. Gusmeroli et al. (2005), riporta, per il territorio Alpino e Sub Alpino, valori medi di 1170 UFL/ ha. Tale valore è lievemente superiore ai risultati medi emersi nello studio da noi svolto alle quote altitudinali più alte (982,3 UFL/ha); nettamente più elevata risulta la produttività da noi rilevata in collina-pianura (2167,2 UFL/ha).

La produttività espressa in q/ha, relativa alla presente sperimentazione, risulta in linea con lo studio condotto da Vecchio et al. (2008), in tre pascoli della Toscana, differenti per altitudine. In questo caso, per il prelievo di fitomassa sono state utilizzate gabbie di esclusione dal pascolamento ed emerge che la produzione media registrata nei pascoli di montagna, collina e pianura, è stata rispettivamente 39,55 - 42,4 - 61,8 q/ha ss. Superchi e al. (2007), in una ricerca condotta in due pascoli di montagna dell'Appennino Parmense riporta una produttività media nettamente inferiore e pari a 6,9 q/ha ss e 7,4 q/ha ss.; Sapia et al. (2011), riportano stime mediamente più basse nei pascoli Appenninici di alta quota, con produzioni comprese fra 14-12q/ha ss.

In una ricerca condotta da Basso et al. (1992) è riportata la produttività media di diverse aree Italiane. Per la Toscana vengono considerati pascoli situati nella Provincia di Firenze nella quota altitudinale compresa tra 500-550 m s.l.m.; i dati ottenuti sono molto variabili e vanno da 3 q/ha di ss a 48,2 q /ha ss. Anche per i pascoli Alpini, Basso et al. (1991) riportano produttività non costanti e comprese fra 6 q/ha ss e 44 q/ha ss. Nella ricerca da noi proposta la quantità di fitomassa prodotta è altrettanto variabile e risulta compresa tra 1,8-35,1 q/ha ss e 3,5-52,45 q/ha ss rispettivamente in montagna e collina-pianura.

Nella tabella 3 sono riportate le specie botaniche dei pascoli analizzati al fine di fornire ulteriori informazioni ma anche di collegarle con la composizione chimica. Si osserva una grande ricchezza di graminacee e leguminose pabulari.

Tabella 3 Composizione floristica delle erbe dei pascoli naturali e naturalizzati della Toscana

Fam. Graminaceae	Fam. Leguminosae	Altre Famiglie
Arrhenatherum elatius	Lotus Corniculatus	Capsella bursa-pastoris
Avena fatua	Medicago sativa	Mentha arvensis
Brachypodium phoenicoides	Onobrycis viciaefolia	Matricaria chamomilla l.
Brachypodium rupestre	Pisum sativum	Alopecurus pratensis l.
Bromus willdenowii kunth	Trifolium hybridum	Taraxacum officinale
Dactylis glomerata	Trifolium incarnatum	Plantago major
Festuca arundinacea	Trifolium pratense	Leucanthemum vulgare
Festuca pratense	Trifolium repens	Rumex l.
Holcus lanatus	Trifolium subterraneum	
Lolium multifolrum	Vicia sativa	Cynara cardunculus
Lolium perenne		Rubus ulmifolius
Phleum pratense		Foeniculum vulgare
Poa Annua		
Poa pratensis		

La composizione chimica delle erbe e il loro valore nutrizionale sono stati utilizzati per comporre le tabelle 4 e 5, rispettivamente contenenti i dati dei pascoli di pianura-collina e montagna. Le erbe sono state ulteriormente suddivise per stadio fenologico e per composizione floristica, come descritto in materiale e metodi.

Le elevate deviazioni standard delle medie di tutti i parametri (tab. 4 e 5) indicano un'ampia variabilità delle caratteristiche delle erbe analizzate, sicuramente per effetto della differente altimetria e degli stadi di maturazione delle erbe che sono state prelevate nell'arco della intera stagione vegetativa; inoltre, il fatto che si tratti di prati naturali ha compreso nel campione erbe ad ampia variabilità in termini anche di composizione floristica. La variabilità in relazione all'altitudine è evidente nei grafici 4-7e dai *box plot* emerge un ampio range per i diversi parametri della composizione chimica e nutrizionale: in particolare per la fibra grezza, NDF e ADF delle erbe. Calcolando i coefficienti di variazione dei diversi parametri si evidenzia che la variabilità è maggiore per le ceneri e per i parametri della fibra in genere, ad esclusione della lignina. Anche il valore nutrizionale, che utilizza appunto questi parametri è ampiamente variabile.

Grafico 4 Composizione chimica delle erbe analizzate in Montagna

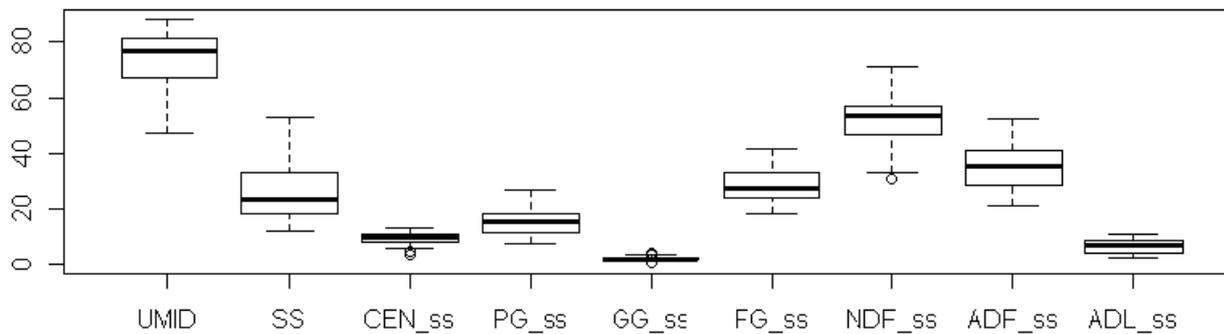


Grafico 5 Composizione chimica e valore nutrizionale delle erbe analizzate in collina e pianura

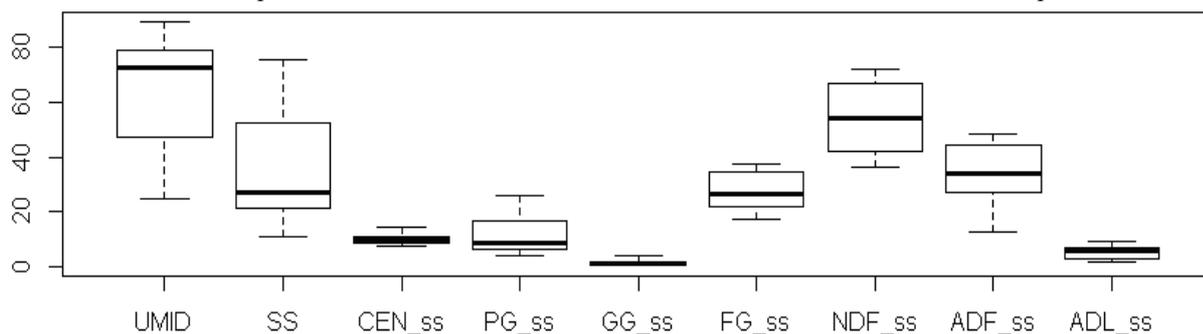


Grafico 6 Valore nutrizionale delle erbe analizzate in Montagna

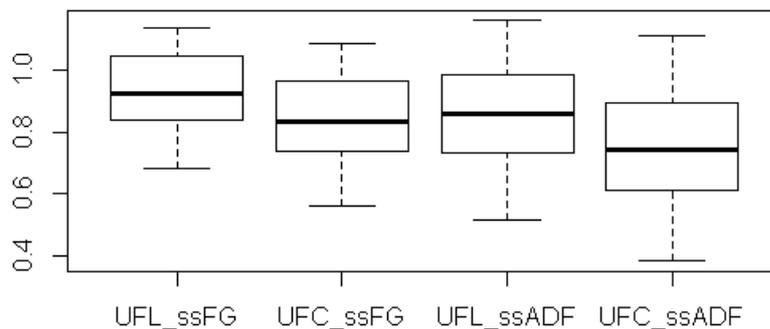
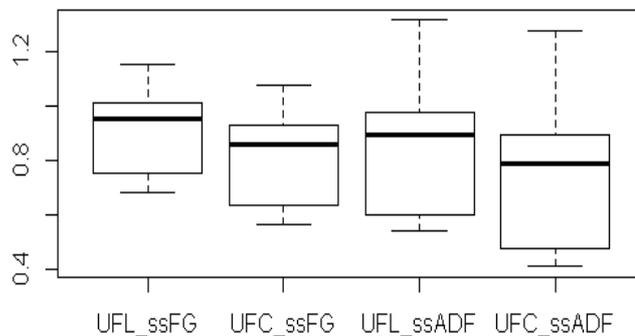


Grafico 7 Valore nutrizionale delle erbe analizzate in collina e pianura



Il contenuto di acqua è legato sia allo stadio vegetativo, ma anche alla composizione floristica; come atteso sistematicamente diminuisce negli stadi vegetativi più avanzati. Le erbe dei pascoli montani inoltre risultano più uniformi mentre per le erbe delle quote più basse la diminuzione di umidità con l'avanzare degli stadi fenologici è più evidente; nella fase finale di maturazione infatti queste risultano decisamente le più secche. Confrontando i valori medi ottenuti per i tre stadi fenologici in montagna (73,18%) e in collina- pianura (72,1%) si osserva un contenuto di acqua lievemente maggiore ad alta quota. Il significato di questo effetto può essere attribuito a un clima più fresco e piovoso in montagna, anche nei mesi estivi.

Il contenuto in acqua rilevato in questo studio per le erbe di alte quote, appare in linea con quello ottenuto da Superchi et al (2007) che riportano valori medi di 72,62% e 65,97% rispettivamente in pascoli di montagna dell'Appennino Parmense. Al contrario, analizzando pascoli di montagna della Croazia, Vitasović Kosic et al. (2014) riportano un'umidità media nettamente inferiore (47,5% e 40,5%).

Infine, in accordo con il nostro studio, l'INRA (2010) riporta analisi di erbe di pascoli di pianura, collina e montagna e si osservano contenuti in acqua che decrescono con l'avanzare dello stadio vegetativo; con una variabilità del parametro che va da 76,8% a 83,9%; da 78,3 % a 85,0% e da 70 a 82%, rispettivamente in pianura, collina e montagna.

Il contenuto in ceneri è risultato mediamente pari a 9,5% in montagna e 10,8% in collina-pianura, comunque costante all'interno delle fasi fenologiche considerate. La diversa composizione floristica delle erbe non sembra differenziare sostanzialmente questo parametro.

In una ricerca condotta sulle erbe dei pascoli del Nord America anche, Muller et al. (1998) ottengono un contenuto in ceneri abbastanza costante passando dalla primavera all'estate con valori dell'ordine 8-9%. In una ricerca, condotta in aree dell'Italia centrale a più quote altitudinali, Danieli et al. (2004), ottengono valori medi di ceneri di 7,76% nei pascoli e di 11,15% sulla totalità dei campioni indagati. Altre ricerche condotte su pascoli Alpini ottengono valori nettamente inferiori: 6,5% di ceneri per Bovolenta et al. (2005) e 5,50% di Argenti et al.(2009). Il contenuto in ceneri proposto in questa ricerca, appare superiore a quello trovato nello studio sui pascoli della Croazia, da Vitasović Kosic et al. (2014) che hanno ottenuto un valore medio di 5,08%.

Nel complesso gli studi nell'Italia Centrale e sull'Appennino mostrano valori simili allo studio da noi proposto, mentre quelli effettuati sulle Alpi riportano contenuti in ceneri sempre più bassi.

La proteina grezza ha mostrato valori medi analoghi per le fasce altimetriche, pari a 15,2%. Questo parametro diminuisce progressivamente dalla fase di levata alla maturazione sia in montagna che in collina-pianura per effetto dell'invecchiamento dei tessuti. Secondo le attese, il contenuto di proteina grezza è più elevato in tutti gli stadi fenologici nei pascoli in cui è presente alta proporzione di leguminose, note per questo aspetto nutrizionale.

I valori medi di proteina ottenuti in questa ricerca appaiono in linea con quelli rilevati da Danieli et al., (2004), in pascoli dell'Italia Centrale. Tuttavia, confrontando i risultati di tale parametro con quelli ottenuti in altri studi condotti su pascoli naturali, i nostri dati appaiono

mediamente elevati, anche a parità di fase fenologica. Nello studio sui pascoli naturali Appenninici di Superchi et al (2007) si riportano, infatti, valori medi di 12,5%. Nei pascoli Alpini Argenti et al. (2009) ottengono valori medi di proteina di 13,2%, Gusmeroli et al. (2005) di 12,6%, Rossato (2011) di 12,7% .

In accordo con lo studio da noi proposto, l'INRA (2010) per i pascoli del territorio francese propone valori medi in pianura e collina rispettivamente di 15,1- 14,7% ; mentre per i pascoli permanenti delle Alpi i valori sono lievemente inferiori (12,7%). Vitasović Kosić et al. (2014), in pascoli della Croazia con altitudine compresa tra 550 e 650 s.l.m., riportano un contenuto di proteina grezza nettamente più basso (9,39%) rispetto a quello da noi proposto; al contrario, Fales et al. (1995) per pascoli del nord America propongono valori di proteina decisamente superiori e compresi fra 18 e 26%.

La diminuzione del livello proteico nel procedere dello stadio vegetativo trova riscontro in altre ricerche eseguite su pascoli naturali del territorio nazionale ed Europeo (Superchi et al., 2007; Miraglia et al. 2008; Bovolenta et al.2005; Vitasović Kosić et al., 2014; Vázquez de Aldana et al. 2000), in tutti questi studi infatti viene sottolineata la sensibile diminuzione di proteine dal periodo primaverile a quello estivo.

I lipidi grezzi, rappresentano una quota modesta della composizione chimica. I nostri dati mostrano valori in diminuzione con l'avanzare dello stadio vegetativo ad entrambe le altitudini considerate; con valori più alti nella fase di levata, si osserva anche un effetto della composizione botanica con valori maggiori dove maggiore è la percentuale di graminacee. Mediamente abbiamo rilevato un contenuto in lipidi grezzi pari a 2,2% in montagna e 2,0% in collina-pianura.

Relativamente all'evoluzione del contenuto di lipidi durante la stagione vegetativa, anche nei risultati di una ricerca eseguita da Andrighetto et al. (1987) si riscontra un andamento in lieve calo in campioni prelevati in successione durante la stagione produttiva.

Il valore medio del contenuto in lipidi grezzi nei pascoli della Toscana risulta in linea con le altre ricerche eseguite sul territorio nazionale (Rossato, 2011).

Relativa mente ai **parametri che valutano la composizione fibrosa** (fibra grezza, NDF, ADF e ADL) si osserva in tutti i casi un aumento con la maturazione dell'erba. Tra i parametri relativi alla parete cellulare, sia in montagna sia in collina-pianura, il più variabile appare la fibra neutro detersa, seguita dalla fibra grezza, dall'acido detersa e infine dalla lignina.

La **fibra grezza** aumenta passando dallo stadio di inizio fioritura a quello di fioritura-maturazione a entrambi i livelli altitudinali considerati. I valori medi corrispondono a 28,2% in montagna e 26,2 % in collina-pianura. L'incremento in fibra grezza corrisponde rispettivamente a 10 e 13 punti percentuali in montagna e collina-pianura. Tali livelli di innalzamento di fibra grezza durante lo sviluppo vegetativo corrispondono a quelli riportati in uno studio di Rieder et al. (1983). Secondo Ramanzin (1987), invece, in una ricerca condotta su pascoli delle Alpi, l'aumento di fibra grezza fra le diverse fasi di crescita dell'erba risulta compreso fra 25,8 e 30,9%. Tali differenze tra i dati presenti in letteratura potrebbero essere riconducibili sia alla differente composizione floristica che ad un effetto del clima, più rigido nelle aree Alpine rispetto a quelle appenniniche.

Nei nostri risultati i valori di fibra grezza non risentono della composizione floristica ne della altimetria.

La **fibra neutro detersa** (NDF), contenente tutte le frazioni fibrose, presenta un andamento crescente con l'aumentare dello stadio vegetativo a entrambi i livelli di altitudine. L'incremento di tale costituente in funzione dell'età della pianta, è confermato in uno studio condotto da Bovolenta et al. (1998) in cui da luglio ad agosto il contenuto di NDF passa da 43 a ben 60%. Anche in altre ricerche, (Pérez Corona et al., 1994; Heitschmidt et al., 1995), in cui è messo in relazione lo stadio fenologico e la variazione di composizione dei tessuti dell'erba, viene osservato l'aumento di fibra neutro detersa nei tessuti più vecchi. I valori medi del contenuto in NDF nelle erbe dei pascoli indagati sono risultati 52,7% in montagna e 50,6% in collina. Bovolenta et al. (2003) e Muller et al., (1998) ottengono valori simili di NDF (51% e 52%) rispettivamente in uno studio sui pascoli naturali Alpini e nordamericani. La ricerca di Argenti et al. (2009) invece trova valori superiori di alcuni punti percentuali con la componente in NDF risultata "nel complesso piuttosto alta, mantenendosi sempre di poco superiore al 60%"; stesse considerazioni esprime Mountousis (2011) nel suo studio sui pascoli della Penisola Iberica. Nel presente studio la fibra neutro detersa è risultata, nella maggior parte dei casi, più alta nelle erbe dei pascoli con composizione floristica ad alta concentrazione di graminacee, in tutti gli stadi vegetativi. Ciò è in accordo con gli studi condotti da Orlandi et al. (2003), Scotton et al. (2000) e Superchi et al., (2007) secondo i quali con l'avanzare della stagione vegetativa le graminacee subiscono maggiori variazioni della composizione chimica a causa della diminuzione della proporzione di foglie rispetto agli steli, e conseguente aumento della porzione fibrosa.

Anche per quanto riguarda la **fibra acido detersa** (ADF) i nostri risultati mettono in luce valori crescenti con l'avanzare dello stadio vegetativo. I valori medi di ADF rilevati nei pascoli presi in esame sono stati 35,5% in montagna e 32,6% in collina-pianura. Superchi et al. (2007), in pascoli Appenninici ad alta quota hanno rilevato, rispetto ai nostri, valori più elevati (39,5% 37,7%); Bovolenta et al. (2003, 2005) hanno osservato invece, in pascoli Alpini, valori più bassi e prossimi a quelli di Muller et al. (1998) con dati di 28% di media stagionale. In uno studio condotto sui pascoli naturali dell'Altopiano di Asiago (Rossato O.G., 2011) il contenuto medio in ADF è stato di circa 37% con valori simili fra rilievi eseguiti in aree delimitate da gabbie e quelli di prati pascolati.

Il contenuto di fibra acido detersa della nostra sperimentazione non sembra essere influenzato in maniera determinante dalla composizione floristica, infatti, si osservano valori analoghi tra i prati con alta e bassa percentuale di graminacee. Si conferma quindi quanto osservato da Orlandi et al. (2003) e cioè che "l'andamento dell'ADF rispecchia in parte quello dell'NDF" ma sono meno evidenti le differenze tra le graminacee e le altre specie in relazione all'avanzare della stagione vegetativa. A proposito di questo fattore i dati della nostra ricerca descrivono, nella maggior parte dei casi, un progressivo innalzamento dei valori all'avanzare della stagione vegetativa. Il medesimo andamento del quantitativo di ADF è risultato anche dagli studi effettuati da Andrighetto et al. (1987): da 34.5 a 38.4% rispettivamente in prelievi di luglio ed agosto; e da Borreani et al. (2007) in cui tale parametro passa da 34.2 a 38.9% nei campioni prelevati da giugno ad agosto. Anche l'INRA (2010), evidenzia un andamento crescente della fibra acido detersa passando dagli stadi vegetativi iniziali a quelli finali in tutti i livelli altitudinali considerati. Per quanto riguarda il contenuto in **lignina** nelle nostre erbe, è risultato mediamente di 6,5% in montagna e 5,4% in collina-pianura, in entrambe le localizzazioni i valori aumentano con l'avanzare dello stadio vegetativo. Tale parametro è risultato sensibilmente inferiore rispetto ai dati riportati in studi su pascoli dell'Italia Centrale da Danieli et al. (2004) con 8,4%; su quelli Appenninici con 7,34% (Superchi et al., 2004) e su quelli Alpini di 9,9% (Bovolenta et

al., 2003) . Al contrario in uno studio successivo Bovolenta et al. (2005) ottengono valori medi molto più bassi (3,7%). Il significato di tale andamento crescente della lignina trova motivazione nella fisiologia delle piante erbacee che “irrigidiscono” i propri fusti per sostenere il peso della maturazione dei semi. Argenti et al. (2009) in pascoli a quota elevata Alpi ha osservato un andamento del contenuto in lignina crescente con prelievi effettuati da giugno ad agosto. Anche dallo studio di Andrighetto et al. (1987) emerge che il contenuto di ADL nella s.s. cresce da 7,4 a 8 a 9,2 ed a 9,3% con prelievi di giugno, luglio, agosto e settembre.

I nostri risultati evidenziano anche che la lignina è sempre più elevata nei pascoli a bassa proporzione di graminacee (inferiori al 70%). Anche, secondo Borgioli (1978) e Superchi et al. (2007), il contenuto in lignina subisce un incremento proporzionale con l'aumentare della percentuale delle dicotiledoni, più ricche di lignina rispetto alle monocotiledoni.

La stima del **valore nutritivo**, espresso in Unità foraggiere latte e carne per kg di sostanza secca, effettuato a partire dai dati analitici, ha prodotto, per i campioni della nostra prova risultati che indicano una diminuzione nel procedere dello stadio vegetativo. Tale decremento è stato maggiore in collina-pianura rispetto alla montagna. I valori medi rilevati in montagna sono stati pari a 0,92 UFL e 0,82 UFC e in collina-pianura di 0,96 UFL e 0,88 UFC. L'analisi della letteratura evidenzia che Superchi et al. (2007) su pascoli Appenninici Parmensi riportano valori medi di 0,72 UFL/kg s.s. e di 0,63 UFC/kg s.s., Antongiovanni et al. (1993), in uno studio relativo ai foraggi della Toscana, per le erbe di prato permanente ottiene valori di 0,70 UFL/kg s.s. e 0,61 UFC/kg s.s.. L'INRA (2010) per le erbe verdi di montagna dei pascoli delle Alpi del Nord propone valori in unità foraggiere comprese tra 0,61 e 0,79 UFL/kg e 0,51-0,72 UFC/kg s.s.; mentre per i prati permanenti della pianura della Normandia presenta valori compresi nel range tra 0,60 e 1,01 UFL/kg ss e 0,50-0,98 UFC/kg s.s.; Rossato (2011) nei pascoli dell'Altopiano di Asiago presenta valori medi di 0,76 UFL kg/ss. Relativamente alla composizione floristica, i nostri dati evidenziano un valore nutritivo sempre più elevato nei pascoli ad alta proporzione di leguminose, a parità degli altri fattori. Anche dalle tabelle dei valori alimentari riportati nel testo dell'INRA (2010), emerge che nei pascoli a base di dicotiledoni le unità foraggiere latte e carne sono sempre maggiori rispetto ai pascoli a base di graminacee. Sempre nel nostro studio, si riportano i valori di UF sia utilizzando le equazioni contenenti la F.G. che l'ADF; questi ultimi risultano sempre leggermente più bassi.

Tabella 4 Composizione chimica (%SS) e valore nutrizionale (UFC e UFL kg/ss) delle erbe di pascoli della Toscana in montagna

Stadio vegetativo	N	% Graminacee leguminose		UM	SS	CEN	PG	GG	FG	EI	NDF	ADF	LIG	UFL *	UFC *	UFL **	UFC **
Levata	10	52_47	media	79,32	20,68	9,29	20,06	2,04	22,80	45,81	44,56	26,79	4,40	1,06	0,98	1,06	0,98
			ds	9,00	9,00	2,34	3,34	0,54	2,79	5,27	6,09	4,54	2,37	0,05	0,06	0,09	0,11
Levata	8	87_13	media	80,95	19,05	9,44	19,17	2,87	23,86	44,66	49,71	28,61	4,29	1,02	0,94	1,00	0,91
			ds	5,34	5,34	2,66	4,39	0,72	3,03	5,49	9,23	3,65	2,22	0,07	0,08	0,09	0,10
Spigatura-Prefioritura	6	47_54	media	74,54	25,46	10,96	16,23	2,09	27,38	43,35	47,45	34,78	7,76	0,95	0,86	0,87	0,76
			ds	5,87	5,87	1,38	2,50	0,21	5,18	2,08	6,58	6,01	1,71	0,10	0,11	0,12	0,14
Spigatura-Prefioritura	10	88_12	media	76,45	23,55	9,59	15,51	2,57	28,45	43,88	53,30	34,59	6,73	0,93	0,83	0,86	0,76
			ds	7,21	7,21	1,54	2,24	0,79	2,97	2,71	5,91	3,19	2,52	0,04	0,04	0,06	0,07
Fioritura-Maturazione	6	57_43	media	64,94	35,06	9,68	11,68	1,86	34,35	42,43	59,62	45,08	8,29	0,81	0,70	0,65	0,52
			ds	8,48	8,48	1,93	3,20	0,75	3,79	5,23	5,81	3,86	1,27	0,08	0,08	0,08	0,09
Fioritura-Maturazione	9	81_19	media	62,93	37,07	8,06	9,41	2,01	35,67	44,86	61,93	43,55	8,01	0,77	0,66	0,66	0,54
			ds	11,48	11,48	1,08	1,60	0,34	4,26	4,22	6,52	4,03	1,65	0,07	0,08	0,07	0,08

* Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra grezza

** Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra acido detersa

Tabella 5 Caratteristiche delle erbe di pascoli della Toscana in collina-pianura: composizione chimica (%ss) e valore nutrizionale (kg/ss)

Stadio vegetativo	N	% Graminacee _leguminose		UM	SS	CEN	PG	GG	FG	EI	NDF	ADF	LIG	UFL *	UFC *	UFL **	UFC **
Levata	8	34_66	media	83,59	16,41	11,85	22,18	2,36	22,22	42,04	44,16	29,13	5,89	1,08	0,99	1,02	0,93
			ds	1,61	1,61	1,56	1,97	0,49	4,08	3,37	6,27	7,56	2,72	0,05	0,06	0,13	0,16
Levata	5	73_27	media	80,54	19,46	11,34	21,70	2,85	22,69	41,42	46,47	28,79	5,03	1,07	0,99	1,02	0,93
			ds	8,29	8,29	1,20	2,22	0,61	2,16	3,61	5,42	2,67	2,53	0,04	0,05	0,05	0,06
Spigatura-Prefioritura	8	47_53	media	78,03	21,97	11,43	17,61	2,55	26,57	41,84	48,07	32,36	5,52	0,98	0,89	0,93	0,83
			ds	5,30	5,30	1,09	4,82	0,63	4,99	7,02	6,06	3,52	2,59	0,08	0,09	0,08	0,09
Spigatura-Prefioritura	8	80_20	media	76,75	23,25	11,51	15,87	2,36	24,21	46,05	47,80	31,93	5,28	0,98	0,88	0,90	0,79
			ds	6,25	6,25	1,24	2,18	0,32	2,56	3,73	7,98	4,71	2,18	0,04	0,05	0,09	0,10
Fioritura-Maturazione	21	56_45	media	57,82	42,18	9,79	8,52	1,08	32,55	48,06	60,47	42,71	6,57	0,80	0,69	0,67	0,54
			ds	11,57	11,57	1,30	4,92	0,50	3,29	3,15	9,67	5,66	1,57	0,10	0,11	0,14	0,16
Fioritura-Maturazione	6	86-14	media	55,90	44,10	9,09	6,96	1,11	29,35	53,49	57,08	37,06	5,07	0,84	0,74	0,75	0,65
			ds	20,28	25,90	1,20	1,91	0,43	7,42	5,90	13,78	10,10	2,22	0,14	0,15	0,22	0,22

* Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra grezza

** Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra acido detersa

7.3 Conclusioni

I risultati hanno evidenziato che i parametri che definiscono la quantità e la qualità dell'erba dei pascoli alle diverse altitudini, sono fortemente condizionati dalla fase fenologica delle essenze presenti. A entrambi i livelli altitudinali i pascoli forniscono erba con valore nutritivo elevato nei primi stadi fenologici quando le piante sono giovani ma, tale valore diminuisce con la crescita dell'erba per effetto dell'aumento delle componenti fibrose e lignificate a tal punto che, a partire dalla fase di prefioritura, non si verifica un aumento del valore nutritivo ad ettaro, nonostante l'aumento ponderale della fitomassa. Altra indicazione in termini di produttività è fornita dalla sostanziale uniformità dei valori nutrizionali per unità di superficie, nelle zone montane; questi pascoli sembrano quindi in grado di sostenere le produzioni animali con maggiore costanza durante tutta la stagione vegetativa, seppur con minori entità di nutrienti.

Nel complesso i rilievi effettuati hanno caratterizzato i pascoli dell'area interessata con alti valori nutrizionali, sia in termini di energia che di proteine, per kg/ss, rispetto a quelli di altri territori studiati. A riguardo della produttività i pascoli dello studio sono risultati in linea con le altre informazioni fornite dalla letteratura per le situazioni appenniniche.

Infine, i risultati hanno confermato l'ampia variabilità quanti-qualitativa dei pascoli in risposta ai fattori ambientali, a quelli biologici ed alla loro interazione: altimetria, rapporto graminacee/leguminose, stadio vegetativo.

La scelta di proporre i risultati conseguiti sotto forma di tabelle informative, strutturate per consentire una molteplice chiave di lettura, piuttosto che sottoforma di medie stimate dei fattori influenti, ha avuto lo scopo di fornire informazioni utilizzabili a livello tecnico operativo nella stesura dei piani alimentari e di razionamento per i ruminanti in produzione zootecnica. La tecnica dal pascolamento infatti è quella maggiormente utilizzata per gli ovini da latte e i bovini da carne che caratterizzano la zootecnia dell'Italia centrale e della Toscana in particolare. I dati riportati nelle tabelle, infine, attraverso la chiave di lettura proposta, possono essere utilizzabili in altre situazioni territoriali e sono in grado di fornire le informazioni necessarie a stimare il valore nutritivo secondo le recenti conoscenze in materia.

7.4 Bibliografia

- Andrighetto I., Ramanzin M., 1987. Caratteristiche chimiche e digeribilità dell'erba di un Pascolo posto in Pian di Cansiglio. *Agricoltura delle Venezie*, 41: 535-542.
- AOAC Association of Official Analytical Chemists, 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. AOAC, Arlington. VI.
- Argenti G., Staglianò N., Targetti S., Pintus B., Ursino A., Odoardi M., 2009. Caratterizzazione della Qualità Foraggera in Alcune Formazioni Pastorali Alpine, XXXVIII Convegno Nazionale della Società Italiana di Agronomia: 419-420
- Basso F., Santilocchi R., Postiglione L., Cavallero A., 1992. Gestione e miglioramento di pascoli italiani, *Rivista di Agronomia* 26, 3 Suppl.: 344-359.
- Borreani G., Giacconi D., Mimosi A., Tabacco E., 2007. Comparison of Hay and Haylage from Permanent Alpine Meadows in Winter Dairy Cows Diets. *Journal of Dairy Science*, 90 (12) : 5643-5650.
- Borgioli E., 1978. Foraggi e mangimi. *Nutrizione animale. Edagricole*, Bologna.
- Bovolenta S., Cozzi G., Tamburini A. Timini M., Ventura W., 2005. L'alimentazione della vacca da latte in alpeggio: fabbisogni e strategie di integrazione alimentare. *Quaderni SoZooAlp*, 2: 29-44.
- Bovolenta S., Saccà E., Ventura W., Piasentier E., Malossini F., 2003. Effect of type and level of supplement on performance of dairy cows grazing on alpine pasture. *Supplementation of grazing dairy cows*, *Italian Journal Animal Science*, 1: 255-263.
- Bovolenta S., Spanchero M., Dover S., Orlandi D., Clementel F. (2008). Chemical composition and net Energy content of alpine pasture species during the grazing season. *Animal Feed Science and Technology*, 146: 178-191.
- Bovolenta S., Ventura W., Piasentier E., Malossini F., 1998. Effect of concentrate level on milk production, body condition score and rennet coagulation properties. *Supplementation of dairy cows grazing an alpine pasture*, *Annales de Zootechnie*, 47: 169-178.
- Catorci A., Antolini E., Tardella F.M., Scocco P. 2013. Assessment of interaction between sheep and poorly palatable grass: a key tool for grassland management and restoration. *Journal of Plant Interactions*, doi:10.1080/17429145.2013.776706.
- Danieli P.P., Carlini P., Bernabucci U., Ronchi B., 2004 Quality evaluation of regional forage resources by means of near infrared reflectance spectroscopy. *Italian Journal Animal Science*, 3: 363-376.
- Fales S. L., Muller L. D., Ford S. A., O'Sullivan M., Hoover R. J., Holden L. A, Lanyon L. E., Buckmaster D. R., 1995. Stocking rate affects production and profitability in a rotationally grazed pasture system. *Journal of Production in Agriculture*, 8: 88-96.
- Gusmeroli F., Corti M., Orlandi D., Pasut D., Bassignana M., 2005. Produzione e prerogative qualitative dei pascoli alpini: riflessi sul comportamento al pascolo e l'ingestione. *Quaderni SoZooAlp*, 2: 7-27.
- Heitschmidt R. K., Grings E. E., Haferkamp M. R., Karl M. G., 1995. Herbage dynamics on two northern great plains range sites. *Journal of Range Management* 48:211-217.
- INRA, 1988. *Alimentation des bovins, ovins e caprins*, Institut National de la Recherche Agronomique. Paris. ISBN: 57-71, 2-7380-0021-5: 324-325, 356-393
- INRA, 2010. *Alimentation des bovins, ovins e caprins*. Ed. Quae INRA, ISBN: 978-2-7592-0873-9:153-221.

- Miraglia N., Costantini M., Polidori M., Meineri G., Peiretti P.G., 2008. Exploitation of a natural pasture by wild horses: comparison between nutritive characteristics of the land and the nutrient requirements of the herds over a 2-year period. *Animal* 2,3: 410-418.
- Mountousis I., Dotas V., Stanogias G., Papanikolaou K., Roukos C.H., Liamadis D., 2011. Altitudinal and seasonal variation in herbage composition and energy and protein content of grasslands on Mt Varnoudas, NW Greece. *Animal Feed Science and Technology* 164: 174–183
- Muller L.D., Fales S.L., 1998. Supplementation of Cool-season Grass Pastures for dairy cattle. *Grass for Dairy Cattle* 13:335-350.
- Orlandi D., Clementel F., Bovolenta S., Dovier S. (2004). Caratterizzazione chimica e nutrizionale delle principali specie pascolive alpine. *Quaderni SoZooAlp*, 1: 171-180.
- Pérez Corona M. E., García Criado B., Vázquez de Aldana B. R., García Ciudad A., 1994. Effect of topographic and temporal (maturity) gradients on the nutritive quality of semiarid herbaceous communities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25: 2047-2061.
- R Core Team 2013. R : A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. URL : <http://www.R-project.org/>.
- Rieder J., Diercks R., Klein W., 1983. Prati e pascoli. Padova Ed. Liviana: 257.
- Rossato O.G., 2011. Caratteristiche della produzione di pascoli dell’altopiano dei Sette Comuni (Vicenza). Tesi di dottorato di ricerca, Università degli studi di Padova.
- Sapia F. C., Benvenuti V., 2011. Le piante foraggere. Per una gestione sostenibile del terreno e il mantenimento e ripristino dei pascoli. Roma, Ed. Armando:82.
- Scotton M., Ziliotto U., Giannelle D., 2000. Influenza della concimazione sugli aspetti quantitativi della produzione di un prato permanente della montagna veneta: risultati di una sperimentazione ventennale. *Riv. Agron.*, 34, 1 Suppl.: 132-143.
- Sheaffer, C.C., Marten, G.C., Rabas, D.L., Martin, N.P., Miller, D.W. (1990): Reed canarigrass. *Minnesota Agricultural Experiment Station Bulletin*, St. Paul, MN: 595- 1990.
- Superchi P., Baratta C., Beretti V., Sabbioni A., 2007. Caratteristiche nutritive di prati-pascoli dell’Appennino Parmense. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma*, Vol. XXVII: 189-198.
- Tallowin J. R. B., Jefferson R. G., 1999. Hay production from lowland seminatural grasslands: a review of implications for livestock systems. *Grass and Forage Science* 54: 99-115.
- Van Soest P. J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Second edition. Cornell University Press, Ithaca and London, USA.
- Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Vázquez de Aldana B. R., García Ciudad A., Pérez Corona M. E., García Criado B., 2000. Nutritional quality of semi-arid grassland in western Spain over a 10-year period: changes in chemical composition of grasses, legumes and forbs. *Grass and Forage Science* 55: 209-220.
- Vecchio V., Pardini A., Pratesi V., Staglianò N., 2008. Composizione botanica e sostanze traccianti di alcuni pascoli toscani. II Conferenza CeRA - Qualità e Tipicità dell’Alimento: alla ricerca del benessere. <http://www.cera.unifi.it/CMpro-v-p-127.html>
- Vitasović Kosić I., Tardella F. M., Grbeša D., škvorc ž, Catorci A., 2014. Effects of abandonment on the functional composition and forage nutritive value of a North Adriatic dry

grassland community. Applied Ecology and Environmental Research 12(1): 285-299. ISSN 1589 1623 .

- Ziliotto U., Andrich O., Lasen C., Ramanzin M., 2004. Tratti essenziali della tipologia veneta dei Pascoli di monte e Dintorni. Regione del Veneto, Accademia Italiana di Scienze Forestali (Venezia).

CAPITOLO 8

PROVA 2:

UTILIZZO DELLA COLORIMETRIA PER LA VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DELL'ERBA FRESCA DEI PASCOLI

Utilizzo della colorimetria per la valutazione della qualità dell'erba fresca dei pascoli

8.1 Materiali e metodi

Descrizione dei campioni

Lo studio ha preso in considerazione le erbe di pascoli naturali e naturalizzati di alcune aree della Toscana. L'area d'indagine e la modalità di prelievo dei campioni sono descritte nella prova 1. I campioni appartengono a pascoli di due quote altitudinali (montagna, collina-pianura) e tre stadi vegetativi diversi (levata, spigatura-prefioritura, fioritura- maturazione).

Analisi dei campioni

I campioni di erba sono stati ridotti in dimensioni di 2-3 cm e resi omogenei.

Il sistema utilizzato per la determinazione del colore (CIE Lab, 1986) ha previsto la misurazione di:

- luminosità (L*): esprime la quantità di luce, distinguendo colori chiari e scuri. Questo parametro comprende valori da 0 (L* nulla) a 100 (L* massima, rappresentato da un bianco scelto come riferimento);
- indice del rosso (a*): esprime il colore rosso se positivo e verde se negativo, con valori che variano da meno a più infinito;
- indice del giallo (b*): esprime il colore giallo se positivo e blu se negativo, con valori che variano da meno a più infinito.

Ogni campione è stato sottoposto a 20 misurazioni del colore (CIE, 1986) tramite colorimetro Minolta CR-200. Le letture colorimetriche sono state effettuate in modo casuale sull'intera massa del campione.

Una volta effettuata la misurazione sul campione fresco, l'intero volume di erba è stato essiccato tramite stufa a ventilazione forzata di aria a 65°C per 48 ore, macinato quindi attraverso mulino elettrico con griglia di 1 mm e reso omogeneo.

Sul medesimo campione è stata eseguita l'analisi tipo e la determinazione delle frazioni fibrose secondo le metodiche di seguito riportate:

- Umidità per differenza con il tenore di sostanza secca (%) per la quale è previsto essiccazione in stufa a 105°C (AOAC, 1990);
- proteina grezza (%) metodo Kjeldahl, tramite apparecchio Kjelttec 2100 Foss (AOAC,1990);
- fibra grezza metodo Weende (%), attraverso Fibertec System 1021 Hot extraction (AOAC,1990);
- frazioni fibrose: fibra neutro detersa (NDF), fibra acido detersa (ADF), lignina tramite l'apparecchio Fibertec System 1021e 1043 Hot and Cold extraction (Van Soest et al., 1991);
- ceneri (%) tramite muffola a 600°C (AOAC,1990).

A partire dai risultati della composizione chimica è stato calcolato il valore nutritivo utilizzando il sistema proposto da INRA (1988; 2010). La metodologia per il calcolo delle Unità Foraggiere Latte e Carne (UFL e UFC) è descritta nel capitolo 5.

Elaborazione dei dati

La composizione chimica determinata per via analitica è stata messa in relazione con gli indici del colore rilevati sui medesimi campioni. I dati sono stati analizzati mediante correlazione e regressione (y = dati chimici; x = dati colore) mediante il programma R (R Core team, 2013). I risultati sono espressi in termini di *p-value* e di coefficienti di determinazione (R^2).

8.2 Risultati e discussione

In tabella 1, sono riportati i risultati delle correlazioni tra le variabili coordinate colorimetriche ed i parametri chimici e nutrizionali. Si evidenzia che:

- la luminosità (L*) è correlata significativamente con umidità, proteine, ceneri ed Unità Foraggiere Latte e Carne;
- l'indice del rosso (a*), se si escludono i parametri proteine ed UFC, è correlato in modo altamente significativo (p-value < 0,001) con tutti i fattori, e solo per il parametro UFL la significatività non raggiunge la soglia prima indicata;
- l'indice del giallo (b*) è correlato significativamente con tutte le frazioni fibrose: NDF, ADF e lignina.

Tabella 1 Correlazioni tra composizione chimica-Unità Foraggiere e coordinate colorimetriche espresse in percentuale tal quale (%) e su UFL e UFC /kg

	L*		a*		b*	
	Correlazione	p-value	Correlazione	p-value	Correlazione	p-value
Umidità	-0,260	*	-0,555	***	0,185	n.s.
Proteina gr.	0,287	*	-0,380	n.s.	-0,120	n.s.
Fibra gr.	0,181	n.s.	0,600	***	-0,220	n.s.
NDF	0,183	n.s.	0,613	***	-0,246	*
ADF	0,192	n.s.	0,636	***	-0,224	*
Lignina	0,141	n.s.	0,715	***	-0,285	*
Ceneri	0,237	*	0,503	***	-0,122	n.s.
UFL	0,309	**	0,244	*	-0,062	n.s.
UFC	0,299	**	0,101	n.s.	-0,090	n.s.

p-value: ***altamente significativo (p < 0,001), ** molto significativo (p < 0,01), *significativo (p < 0,05).

I risultati dell'analisi della regressione fra coordinate colorimetriche e composizione chimico-nutrizionale delle erbe sono riportati in tabella 2. Emerge che i coefficienti di determinazione (R^2) rispetto alla luminosità (max 8%) e all'indice del giallo (max 7%) sono stati decisamente bassi. Solo l'indice del rosso sembra spiegare buona parte della variabilità della composizione chimica (da 24 a 50%) ad esclusione della componente proteica e delle Unità Foraggiere Carne. In particolare, i migliori risultati sono stati ottenuti per le componenti fibrose dell'erba, di peculiare interesse per i loro effetti sulla digeribilità. La capacità di stima più alta è stata evidenziata per la lignina, seguita dalla ADF (cellulosa + lignina + ceneri) da NDF (emicellulosa + cellulosa + lignina + ceneri) e dalla fibra grezza (intera parete cellulare). Il coefficiente di determinazione delle regressioni di questi parametri tende a diminuire passando dalla lignina fino alla fibra grezza probabilmente a causa della via via minore percentuale di lignina nei parametri. Sembra, quindi, che la misurazione delle coordinate colorimetriche sia capace di rilevare le variazioni del costituente lignina ma, ben poco delle altre componenti.

Di seguito, sono riportate le equazioni di regressione stimate per i diversi parametri relativi alla componente fibrosa delle erbe:

$$\text{fibra grezza} = 14.6289 + 0.6685 * \text{indice del rosso}$$

$$\text{fibra neutro deterosa} = 26.4976 + 1.1851 * \text{indice del rosso}$$

$$\text{fibra acido deterosa} = 19.1319 + 0.9118 * \text{indice del rosso}$$

$$\text{Lignina} = 4.0876 + 0.2148 * \text{indice del rosso}$$

Tabella 2 Risultati di stima della regressione fra coordinate colorimetriche e composizione chimica degli alimenti espressa in % sul tal quale

	L	A	B
	R^2	R^2	R^2
Umidità	0,0551	0,2966	0,0213
Proteina g.	0,0702	-	-
Fibra g.	0,0200	0,3512	0,0357
NDF	0,0205	0,3670	0,0477
ADF	0,0238	0,3968	0,0376
Lignina	0,0690	0,5052	0,0668
Ceneri	0,0436	0,2425	0,0018
UFL	0,0835	0,0471	0,0094
UFC	0,0773	-	-

L'indice del rosso sembra quindi l'unico parametro che riesce a spiegare una buona parte della variabilità dei parametri studiati; il suo andamento in funzione delle frazioni fibrose è riportato nelle figure 1- 4. Emerge che all'aumentare della a^* crescono, anche, i valori di NDF, ADF e lignina.

In linea generale, i risultati sono in accordo con le variazioni che si verificano con l'avanzamento della stagione vegetativa nella composizione delle erbe e di conseguenza nel valore nutrizionale. In effetti, all'aumentare della luminosità e alla diminuzione dell'indice del rosso corrispondono alti tenori in umidità e decrementi delle componenti fibrose.

Infine, per tutti i parametri considerati l'indice del rosso mostra valori negativi che si traducono in tonalità del verde, mentre la coordinata b^* evidenzia sempre valori positivi associati al colore giallo. E' chiaro che tali colori coincidono con quelli visibili dall'occhio umano e che esiste una netta associazione fra alcune coordinate colorimetriche e gli effettivi cambiamenti del colore delle erbe che avvengono in natura con l'evoluzione degli stadi fenologici. Al passare della stagione in effetti le erbe virano dal verde ai toni del giallo-rossastro perdendo il colore carico e risultando più "luminose".

In letteratura non sono presenti studi simili al presente, tuttavia, sono state svolte alcune ricerche relative alla stima di alcune caratteristiche nutrizionali dei pascoli tramite rilevamenti satellitari. In particolare, questi studi hanno utilizzato l'indice NDVI che misura le differenze di riflettanza spettrale acquisite nella regione visibile e nel vicino infrarosso (Mueller et al., 2008; Pettorelli et al, 2011; Ranghetti et al, 2014). Anche in queste ricerche, i risultati hanno mostrato che l'ipotesi di utilizzare i dati satellitari, derivanti dalla riflessione del colore (valori NDVI), per predire le proprietà nutrizionali dell'erba deve essere respinta in quanto questa relazione non rappresenta mai più del 10% della varianza totale (Ranghetti et al, 2014).

Fig.1 Indice del rosso vs Fibra grezza

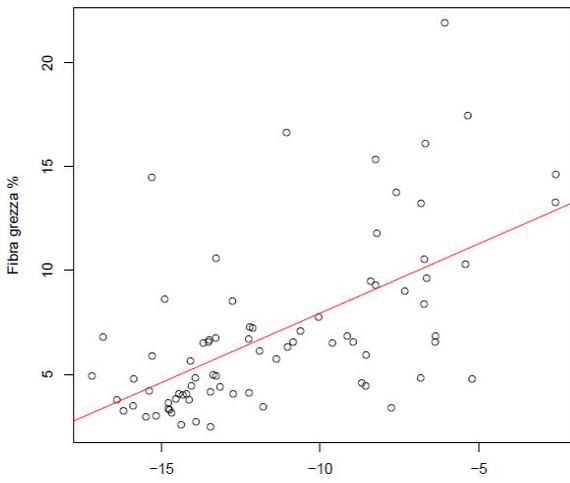


Fig.2 Indice del rosso vs Fibra Neutro Detersa

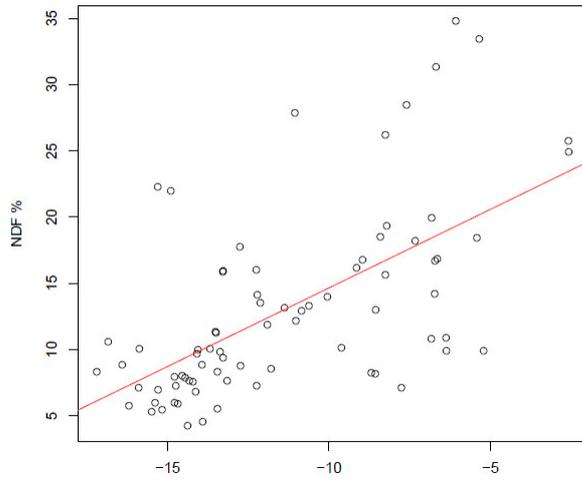


Fig.3 Indice del rosso vs Fibra Acido Detersa

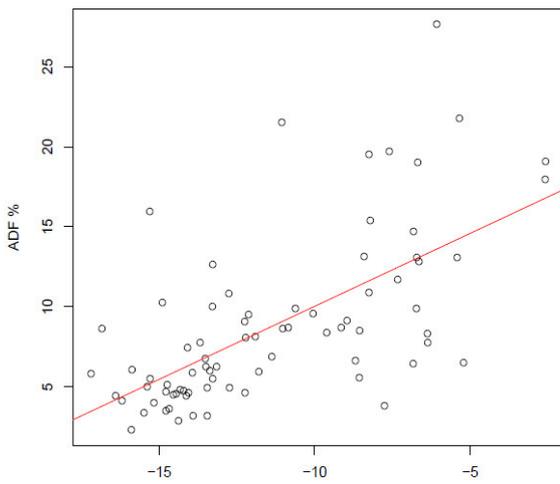
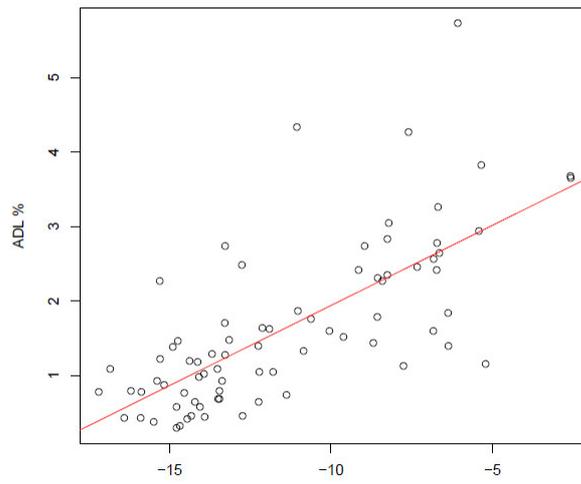


Fig. 4 Indice del rosso vs Lignina



8.3 Conclusioni

I parametri del colore hanno mostrato essere in relazione con le caratteristiche chimiche e nutrizionali delle erbe in modo differenziato. La componente del rosso sembra essere quella che più riesce a spiegare la variabilità presente senza mai raggiungere però livelli tali da permetterne un impiego come stimatore attendibile. Sono soprattutto le frazioni fibrose a mostrare un andamento correlato alla componente del rosso e tale comportamento è attribuibile al fatto che la componente fibrosa ed in particolare la lignina, rispecchia i cambiamenti che si verificano nella composizione chimica con l'avanzare dello stadio vegetativo. In ogni caso, i modesti coefficienti di determinazione ottenuti si traducono in scarsa capacità predittiva del colore per questi parametri rendendone scarso l'interesse applicativo.

8.4 Bibliografia

- AOAC Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC. Arlington. VI.
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), 1986. Colorimetry. CIE Publication n.152, Commission Internationale de l'Eclairage Vienna.
- INRA, 2010. Alimentation des bovins, ovins e caprins. Ed. Quae INRA, ISBN: 978-2-7592-0873-9:153-221.
- Mueller T. B., Olson K. D, Fuller T., Schaller G., Murray M., Leimgruber P., 2008. In search of forage: Predicting dynamic habitats of Mongolian gazelles using satellite-based estimates of vegetation productivity. *Journal of Applied Ecology*, 45, 2: 649–658.
- Pettorelli N., Ryan S., Mueller T., Bunnefeld N., Jedrzejewska B., Lima M., Kausrud K., 2011. The Normalized Difference Vegetation Index (NDVI): Unforeseen successes in animal ecology, *Climate Research*. 46, 1: 15–27.
- R Core Team 2013. R : A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. URL : <http://www.R-project.org/>.
- Ranghetti L., Bassano B., Bogliani G., Von Hardenberg A., 2014. Estimation of nutritional properties of alpine grassland from MODIS satellite data. In : Ranghetti L., 2014. Using remotely sensed estimators to detect temporal trends of ecological predictors: the cases of nutritional content of alpine grasslands and water management in ricefields : 31. <http://ecoeto.unipv.it/ranghetti>.
- Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597

CAPITOLO 9

PROVA 3:

VALUTAZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE

DELLE ERBE DI PASCOLI

TRAMITE NIR_s

Valutazione chimico-nutrizionale delle erbe di pascoli tramite NIRs

9.1 Materiali e metodi

Descrizione dei campioni

Lo studio ha preso in considerazione le essenze erbacee di pascoli naturali e naturalizzati di alcune aree della Toscana. L'area d'indagine e la modalità di prelievo dei campioni sono descritte nella prova 1. I campioni appartengono a pascoli di due quote altitudinali (montagna, collina-pianura) e tre stadi vegetativi diversi (levata, spigatura-prefioritura, fioritura-maturazione).

Inoltre il presente contributo di ricerca ha impiegato ulteriori 50 campioni di erbe appartenenti a specie botaniche, stadi fenologici e ad aree pedo-climatiche differenti.

Analisi dei campioni

I campioni di erba, provenienti dai diversi pascoli, sono stati ridotti in dimensioni di 2-3 cm e resi omogenei. La preparazione dell'erba ha previsto una accurata e omogenea collocazione all'interno del cup spinner, al fine di evitare la presenza di vuoti e fare in modo che il fascio luminoso potesse investire il campione nella sua interezza. Il cup spinner è un accessorio costituito da un disco in quarzo che permette più letture del campione attraverso la rotazione circolare sopra la sorgente NIRs.

Per ogni campione, tre aliquote di erba fresca sono state sottoposte a lettura NIRS tramite l'apparecchio FT-NIRs Antaris II (ThermoScientific,2011). La lettura spettrale, in assorbanza, ha previsto 32 scansioni con risoluzione di 16 cm^{-1} . L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il valore medio delle tre differenti repliche.

Successivamente, l'intero volume di erba è stato essiccato tramite stufa a ventilazione forzata di aria a 65°C per 48 ore, macinato attraverso mulino elettrico con griglia di 1 mm e reso omogeneo. Un'aliquota di campione trattata con tale tecnica di conservazione, è stata sottoposta a lettura NIRS. Anche in questo caso, ogni lettura spettrale ha previsto 32 scansioni con risoluzione di 16 cm^{-1} (Lobos et al., 2013).

Sugli stessi campioni sono state eseguite l'analisi tipo e la determinazione delle frazioni fibrose secondo le metodiche di seguito riportate:

- tenore di sostanza secca (%) essiccazione tramite in stufa a 105°C (AOAC, 1990);
- proteina grezza (%) metodo Kjeldahl, tramite apparecchio Kjeltac 2100 Foss (AOAC,1990);
- lipidi grezzi (%), tramite apparecchio Soxhtec System Ht 1043 Extraction unit (AOAC,1990);
- fibra grezza metodo Weende (%), attraverso Fibertec System 1021 Hot extraction (AOAC,1990);
- ceneri (%) tramite muffola a 600°C (AOAC,1990);
- frazioni fibrose: fibra neutro detersa (NDF), fibra acido detersa (ADF), lignina (ADL) tramite l'apparecchio Fibertec System 1021e 1043 Hot and Cold extraction (Van Soest et al., 1991).

A partire dai risultati della composizione chimica è stato calcolato il valore nutritivo utilizzando il sistema proposto da INRA (1988; 2010). La metodologia per il calcolo delle Unità Foraggiere Latte e Carne è descritta in prova 1.

Calibrazione del NIRS

Per sviluppare i modelli di calibrazione a partire dalle erbe fresche ed essiccate sono stati selezionati e impiegati rispettivamente due set di 77 e 90 campioni. Per la fase di calibrazione ogni parametro relativo alla composizione chimica e al valore nutritivo è stato analizzato singolarmente. Entrambi i set di dati dei campioni corrispondenti alle due tecniche di conservazione (freschi ed essiccati) sono stati sottoposti alla stessa metodologia di calibrazione, di seguito riportata:

- Selezione di outlier a partire dalla composizione chimica dei dati tramite il programma statistico R (R Core Team, 2013);
- Selezione di outlier delle letture spettrali tramite il programma TQ Analyst (ThermoScientific, 2011);
- Trattamento dei dati spettrali con moltiplicative scatter correction (MSC) attraverso il programma TQ Analyst (ThermoScientific, 2011);
- Selezione delle regioni spettrali significative per i parametri, dove necessario, attraverso il programma TQ Analyst (ThermoScientific, 2011);
- Applicazione di algoritmi di calibrazione PLS (Partial Least Squares) e PCR (Principal Component Regression) attraverso il programma TQ Analyst (ThermoScientific, 2011);
- Validazione della calibrazione in Cross Validation attraverso il programma TQ Analyst (ThermoScientific, 2011).

La calibrazione e la cross validation sono state espresse in termini di:

- coefficiente di determinazione in calibrazione (R^2) e in cross validation (R^2);
- errore quadratico medio in calibrazione (RMSEC) e in cross validation (RMSEV).

Il coefficiente di determinazione indica il grado di collinearità tra i dati misurati e quelli predetti dallo strumento descrivendo un modello di variazione della variabile X in funzione della variabile Y. L' R^2 è un valore compreso fra 0 e 1, se prossimo ad 1 significa che la regressione predice bene il valore della variabile dipendente nel campione.

L'errore quadratico medio misura la discrepanza quadratica media fra i valori dei dati osservati ed i valori dei dati stimati; valutando la capacità di regressione di un modello. In pratica l'RMSE misura quanto accuratamente il modello predice la risposta.

Questo errore indica la differenza tra la deviazione standard e i valori previsti che in questo caso si riferiscono alla composizione chimica- nutrizionale.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}{n}}$$

In cui: x_i è il valore dell'analisi chimica, y_i è il valore predetto dal NIRs e n il numero di campioni considerati.

Infine, è stato calcolato il ratio of prediction to deviation o Ratio of Performance to Deviation (RPD) ovvero il rapporto tra la deviazione standard dei dati analitici di riferimento e l'errore quadratico medio (Williams et al., 1995). Il fattore RPD misura l'incremento dell'accuratezza delle stime rispetto ai valori medi di Y cioè quanto un modello di predizione è accurato rispetto alla media dei dati analitici di riferimento (Kusumo et al., 2008).

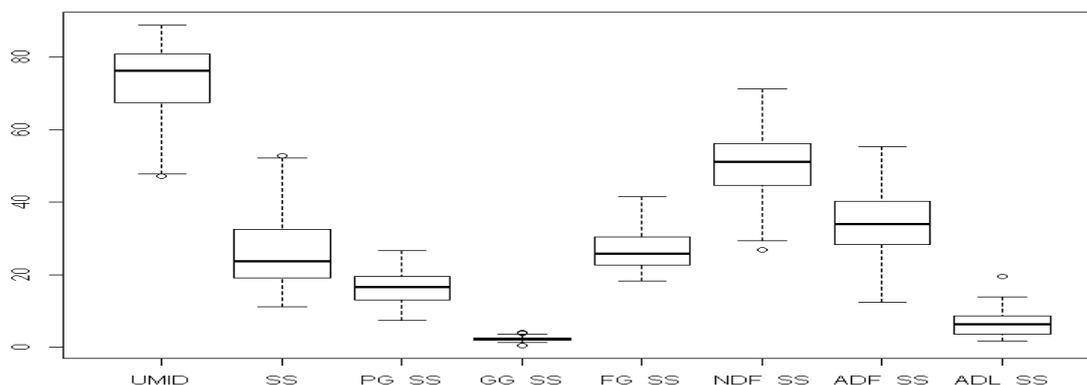
$$RPD = \frac{SD(y)}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}}}$$

Un valore di RPD al di sotto di 1,5 indica che il modello è inutilizzabile, se compreso tra 1,5 e 2,0 che ha le potenzialità di distinguere set di dati con valori alti e bassi, mentre tra 2,0 e 2,5 si traduce nella possibilità di effettuare l'analisi quantitativa. Valori di RPD superiori a 2,5 sono considerati per indicare capacità predittive del modello "eccellenti" (Goldshleger et al., 2013).

9.2 Risultati e discussione

La variabilità della composizione chimica delle erbe dei pascoli polifiti della Toscana è osservabile dai box plot grafico 1. La variazione qualitativa osservata nei campioni è la diretta conseguenza dei cambiamenti che avvengono nelle erbe a causa dell'evoluzione degli stadi fenologici, delle diverse composizioni botaniche ma anche dei fattori pedo-climatici.

Grafico1 Variabilità della composizione chimica delle erbe dei pascoli



In accordo con Lobos et al. (2013), l'alta variabilità osservata nella composizione chimica e nel valore nutrizionale rappresenta un elemento positivo nella calibrazione NIRS soprattutto per la successiva applicazione dei risultati a nuovi set di campioni che in questo caso sono rappresentati da risorse botaniche complesse, quali pascoli polifiti e che risultano differenti per altitudine e stadio vegetativo (Hopkins, 2000). Dall'osservazione della variabilità dei parametri, appare che i lipidi e la lignina comprendono range di dati poco estesi. Nonostante, a priori sembri più difficile realizzare equazioni di stima per variabilità così ridotte, non sempre è necessaria la condizione opposta per avere, successivamente, buone calibrazioni.

I risultati della calibrazione e della cross validazione per le erbe dei pascoli sottoposti a conservazione tramite essiccazione sono riportati in tabella 1. Per ogni parametro sono riportati il numero di campioni utilizzati, il range della composizione chimica a cui si fa riferimento, i coefficienti di determinazione, gli errori quadratici medi, gli RPD e il tipo di trattamento matematico utilizzato.

Tabella 1 Risultati della calibrazione e della cross validazione per l'erba sottoposta a essiccazione.

	UM	N	Range	Calibration			Validation			Tratt. Mat.
				R ²	RMSEC	RPD	R ²	RMSEV	RPD	
SS	%	88	11,1-47,4	0,9962	1,12	8,9	0,9766	2,02	4,6	PLS
				0,9672	2,38	-	0,9407	3,22	-	PCR
Prot. g.	%	87	4,1-25,8	0,9889	0,885	6,9	0,9702	1,45	4,2	PLS
				0,9775	1,26	-	0,9643	1,58	-	PCR
Cen.	%	90	5,9-22,7	0,9871	1,14	1,6	0,7402	1,02	1,8	PLS
				0,7343	1,02	-	0,6170	1,19	-	PCR
Lip. g.	%	83	0,5- 4,0	0,9900	0,116	7,3	0,8792	0,318	2,6	PLS
				0,8155	0,380	-	0,7374	0,445	-	PCR
Fibr. g	%	80	20,3-41,4	0,9589	1,69	3,6	0,9005	2,60	2,5	PLS
				0,9234	2,29	-	0,8935	2,68	-	PCR
NDF	%	88	26,9- 70,9	0,9956	0,90	10,0	0,9361	3,50	2,8	PLS
				0,9475	3,17	-	0,9269	3,72	-	PCR
ADF	%	82	21,3-48,8	0,9821	1,50	5,4	0,9572	2,31	3,5	PLS
				0,9634	2,14	-	0,9489	2,52	-	PCR
Lignina	%	85	1,9- 12,37	0,9932	0,292	8,4	0,8968	1,07	2,6	PLS
				0,8578	1,29	-	0,8072	1,49	-	PCR
UFL*	kg/ss	90	0,97- 1,15	0,8447	0,070	1,9	0,8199	0,075	1,8	PLS
				0,8472	0,069	-	0,7922	0,080	-	PCR
UFC *	kg/ss	90	0,56-1,08	0,9222	0,096	1,5	0,8839	0,068	2,2	PLS
				0,8964	0,064	-	0,8664	0,073	-	PCR
UFL**	kg/ss	90	0,51- 1,16	0,8212	0,103	1,8	0,8052	0,108	1,7	PLS
				0,8269	0,099	-	0,7827	0,112	-	PCR
UFC**	kg/ss	90	0,74-1,27	0,8031	0,121	1,7	0,7874	0,126	1,6	PLS
				0,8164	0,11	-	0,7539	0,132	-	PCR

* Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra grezza

** Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra acido detersa

I migliori risultati per le erbe sottoposte a essiccazione sono stati ottenuti con il trattamento PLS. In calibrazione i coefficienti di determinazione sono risultati sempre alti con valori compresi fra 0,9962 e 0,8031 e gli errori quadratici medi non sono apparsi elevati (minimo di 0,070 e massimo 1,50).

I risultati ottenuti invece con il processo di cross validazione, ovviamente, sono apparsi più bassi con R² compresi tra 0,9766 e 0,7402; la differenza rispetto alla fase di calibrazione è stata modesta per le proteine, mentre per alcuni parametri relativi alla componente fibrosa la perdita di precisione è stata più elevata. Tale effetto potrebbe essere causato dall'ampio range della composizione chimica delle erbe dei pascoli considerati associato a un numero non elevato di campioni. In effetti, le componenti fibrose nei vegetali si presentano molto eterogenee e contengono proporzioni variabili delle diverse frazioni in funzione dello stadio fenologico. Un ulteriore fattore di disturbo potrebbe essere associato ad un'ampia composizione dello spettro floristico delle erbe dei pascoli analizzati (tab. 2). Inoltre, specie botaniche diverse presentano fasi fenologiche che non si evolvono nello stesso modo e raggiungono i diversi stadi in momenti diversi.

Tabella 2 Composizione floristica delle erbe dei pascoli naturali e naturalizzati della Toscana

Fam. Graminaceae	Fam. Leguminosae	Altre Famiglie
Arrhenatherum elatius	Lotus corniculatus	Capsella bursa-pastoris
Avena fatua	Medicago sativa	Mentha arvensis
Brachypodium phoenicoides	Onobrycis viciaefolia	Matricaria chamomilla l.
Brachypodium rupestre	Pisum sativum	Alopecurus pratensis l.
Bromus willdenowii kunth	Trifolium hybridum	Taraxacum officinale
Dactylis glomerata	Trifolium incarnatum	Plantago major
Festuca arundinacea	Trifolium pratense	Leucanthemum vulgare
Festuca pratense	Trifolium repens	Rumex l.
Holcus lanatus	Trifolium subterraneum	
Lolium multiflorum	Vicia sativa	Cynara cardunculus
Lolium perenne		Rubus ulmifolius
Phleum pratense		Foeniculum vulgare
Poa Annua		
Poa pratensis		

La calibrazione della sostanza secca (e di conseguenza del suo complemento a 100 cioè l'umidità) ha mostrato indici di accuratezza e precisione del modello di stima elevati. D'altra parte l'acqua risulta una fra le caratteristiche dominanti dello spettro NIRS (Roberts et al., 2003). Sotto l'aspetto applicativo il contenuto in umidità assume particolare importanza in collegamento ad altri parametri, ad esempio per le proteine e le costituenti fibrose, in quanto le maggiori differenze spettrali sono manifestate in regioni associate agli assorbimenti di -OH (Roberts et al., 2003). Lobos et al. (2010), per i pascoli polifiti, ottengono in calibrazione un modello leggermente meno valido con un R^2 di 0,89 e un RMSE di 0,90 e una evidente differenza fra RPD (3,1). Fekuda et al. (2010), considerando un range di valori inferiori ottengono un coefficiente di determinazione in calibrazione e in validazione più basso di quello qui rilevato, ma anche errori meno elevati.

Grafico 2 Predizione della SS in calibrazione

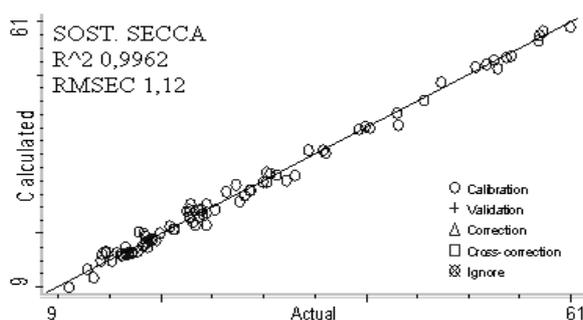
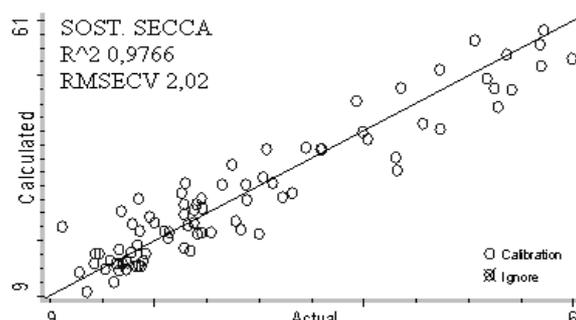


Grafico 3 Predizione della SS in cross validazione



Le **proteine grezze** (grafici 4-5) sono il parametro che mostra il migliore risultato sia in calibrazione che in cross validazione, in termini di attendibilità di stima (R^2) ma anche di errore (RMSCV). Il motivo dell'alto livello di accuratezza e precisione per la stima tramite NIRS delle proteine è attribuibile alla correlazione molto significativa tra l'assorbanza nella regione spettrale dei legami ammidici che coinvolgono l'azoto e il contenuto di N se misurato con il metodo Kjeldahl (Shenk et al., 1994; Deaville et al., 2000; Andres, 2005). La relazione tra relazione tra NIRS e metodologia analitica primaria per gli aspetti relativi a accuratezza, precisione e ripetibilità si riflette, quindi, sulla calibrazione e sulle successive stime. Come atteso e in linea con le altre

ricerche, il coefficiente di determinazione per le proteine risulta elevato sia in calibrazione sia in validazione. Il RMSE in calibrazione è in linea con quello conseguito in pascoli polifiti da Lobos et al. (2013), inferiore all'errore in termini di SEC di 4,91 conseguito nella ricerca di Andres et al. (2005) e superiore al SEC di 1,02 di Danieli et al. (2004). Fekadu et al. (2010) ottengono un SEC e un SECV piuttosto bassi e corrispondenti a 0,92 e 1,05 ma anche i coefficienti di determinazione a cui sono associati non sono elevati (0,83 e 0,61).

Il *ratio of prediction to deviation* in calibrazione risulta sempre superiore a 2,5 limite considerato da diversi autori (Goldshleger et al., 2013; Chang et al., 2001; William, 1987) per indicare buone e ottime capacità predittive del modello. Confrontando gli RPD da noi ottenuti con quelli conseguiti in altri studi sui pascoli polifiti, si nota che il valore ottenuto nel nostro studio risulta più basso. Lobos et al. (2013) riportano un RPD (calcolato sul SEC) in calibrazione di 10,3, Andrés et al. (2005) di 6,9 in predizione. In cross validazione, Reddersen et al. (2013) ottengono, in riferimento alla prova in cui la lettura spettrale è effettuata con cuvette di quarzo, un RPD (sul SEC) di solo 1 punto più basso. Nonostante il range di valori considerati sia piuttosto elevato il parametro proteina grezza permette stime NIRS con elevata accuratezza in accordo con altri Autori (Roberts et al., 2003; Beth et al., 2013).

Grafico 4 Predizione della Prot. in calibrazione

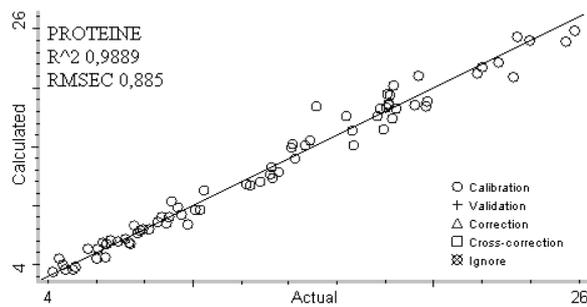
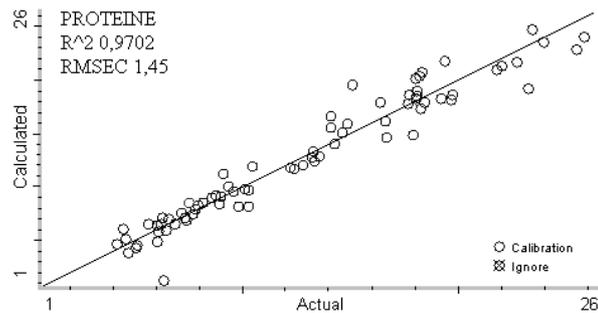


Grafico 5 Predizione della Prot. in cross validazione



Le **ceneri** (grafici 6-7) mostrano un R^2 in calibrazione in linea con quello ottenuto in ricerche simili sui pascoli. Nel passaggio in cross validazione vi è un netto peggioramento, d'altra parte i minerali non presentano la caratteristica di riflettere la luce e di conseguenza non assorbono segnali nella regione del vicino infrarosso. La determinazione delle ceneri tramite NIRS è, quindi, una stima indiretta basata sulla relazione con gli altri nutrienti presenti nel foraggio, in particolare con i composti organici (De Boever et al., 1994; Beth et al., 2013). In altre ricerche sui pascoli Fekuda et al. (2010) ottengono un R^2 in calibrazione inferiore a quello da noi proposto e corrispondente a 0,86 con un SEC di 0,73. Al contrario in cross validazione Reddersen et al. (2013) ottengono una stima migliore rispetto a quella di questo studio con R^2 di 0,89, un RMSE di 0,59. Inoltre, le ceneri fra tutti parametri considerati mostrano l'RPD più basso.

Grafico 6 Predizione delle Ceneri in calibrazione

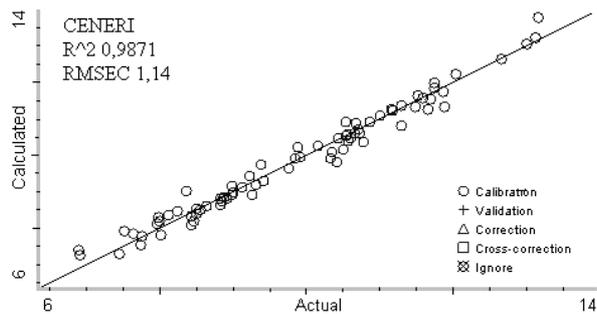
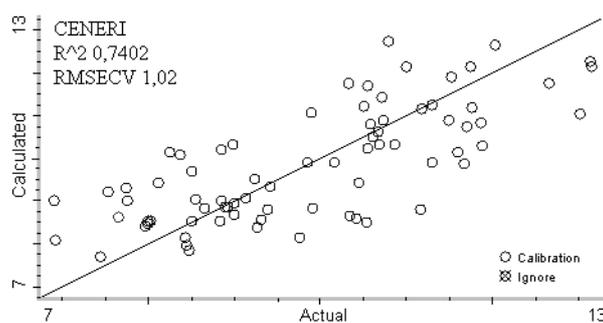


Grafico 7 Predizione delle Ceneri in cross validazione



I **lipidi** grezzi (grafici 8-9), misurati nella chimica analitica come estratto etereo, in questa prova mostrano un alto coefficiente di determinazione in calibrazione e un basso errore quadratico medio. Nel passaggio in cross validazione, ovviamente, si evidenzia un peggioramento, ma l'errore resta sempre contenuto. I lipidi presentano, infatti, catene alifatiche -CH che mostrano un andamento caratteristico di assorbimento nel vicino infrarosso e questo può essere il motivo dell'adeguata precisione di stima ottenuta per questo parametro. Tuttavia, i lipidi grezzi non sono determinati comunemente nei foraggi perché sono presenti a livelli bassi e il range presenta un'ampiezza ridotta. Secondo Roberts et al. (2003) nelle ricerche in cui è stata provata la calibrazione del NIRS per i lipidi, di tipologie diverse di foraggi, i valori di R² ottenuti sono risultati sempre bassi (0,57) (Roberts et al., 2003). Al contrario Stuth et al. (2003), in una review riportano che la determinazione dei lipidi tramite NIRS ha conseguito risultati variabili e che uno fra i fattori più importanti da considerare è l'ampiezza del range di riferimento. Nello studio da noi proposto i lipidi delle erbe hanno coperto una variabilità abbastanza ampia considerando la tipologia di matrice e compresa tra 0,5 e 4%.

Grafico 8 Predizione dei lipidi in calibrazione

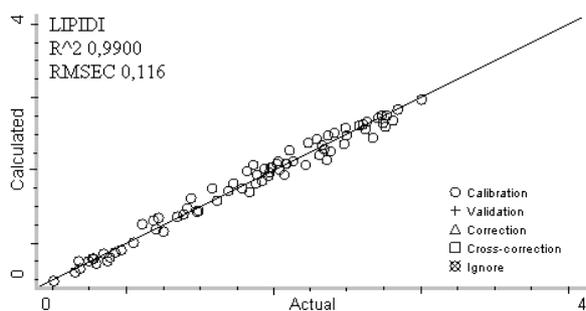
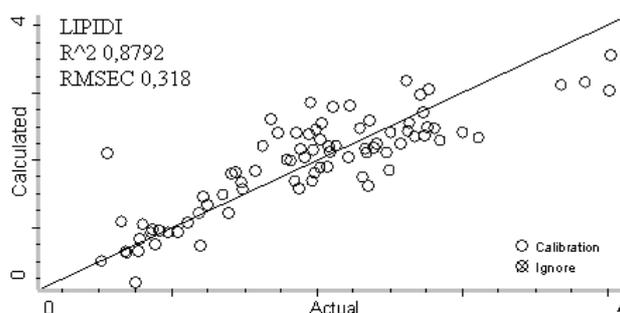


Grafico 9 Predizione dei lipidi in cross validazione



La **fibra grezza** e le frazioni fibrose in calibrazione mostrano coefficienti di determinazione elevati ed errori quadratici medi tutto sommato modesti. In questa fase i peggiori risultati sono stati quelli mostrati dalla fibra grezza (grafici 10-11) che d'altra parte risulta il parametro la cui determinazione analitica è meno precisa rispetto ai componenti della parete cellulare che rappresenta. L'analisi della cellulosa grezza secondo Weende consente, infatti, solo una stima approssimata, in quanto l'impiego di detergenti acidi e basici determina una parziale solubilizzazione delle emicellulose e della lignina che vanno invece a sovrastimare il contenuto di estrattivi inazotati (Bittante et al., 1991). Roberts et al. (2003) riportano, con significato generale, che uno fra i limiti e i problemi principali nell'applicazione chimica quantitativa della spettroscopia NIRS, agli alimenti destinati agli animali è l'inadeguatezza, in termini di bassa precisione e ripetibilità, di molti metodi di riferimento convenzionalmente utilizzati nei laboratori. Secondo Murray (1988) "stiamo usando la

chimica del diciannovesimo secolo per calibrare tecnologie del ventesimo”, ma il problema è stato descritto anche successivamente da molti autori in (Shenk,1992; Beth et al., 2013).

Grafico 10 Predizione della Fibra g. in calibrazione

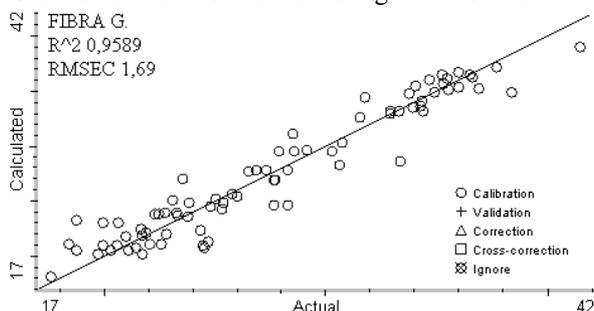
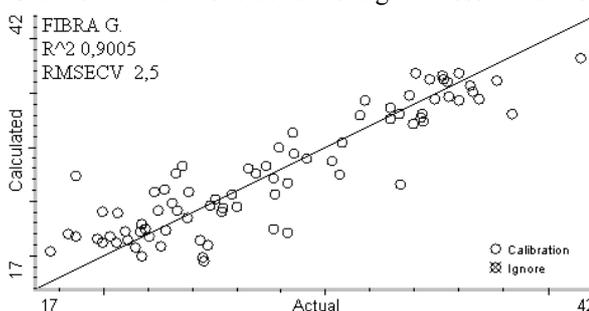


Grafico 11 Predizione della Fibra g. in cross validazione



La **fibra acido detersa** (grafici 12-13), parametro più simile alla fibra grezza ma la cui metodica analitica risulta più accurata e precisa, presenta un errore quadratico medio in calibrazione inferiore. Anche in cross validazione l'ADF mostra un coefficiente di determinazione più alto e un RMSE più basso rispetto alla fibra grezza, nonostante la maggiore variabilità dei dati considerati. In accordo con questo studio, Danieli et al. (2004) riportano una maggiore precisione per la frazione acido detersa, nonostante la differenza fra i risultati dei due parametri sia inferiore. Tuttavia l'errore ottenuto nel nostro studio in validazione appare più alto rispetto ad altri studi: Fekadu et al. (2010) riportano un SECV di 3,29 (R^2 di 0,81); Danieli et al. (2004) un SECV di 1,32 (R^2 di 0,95).

Grafico 12 Predizione ADF in calibrazione

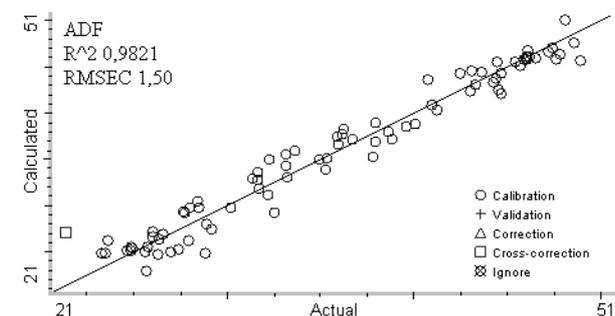
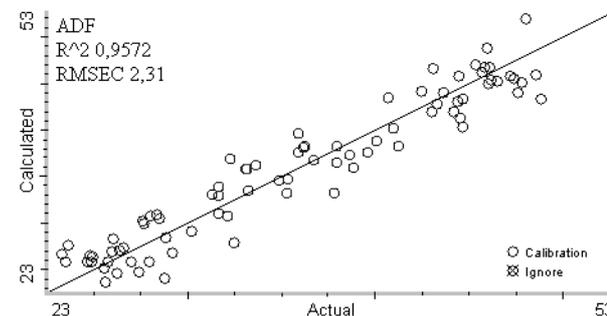


Grafico 13 Predizione ADF in cross validazione



La **fibra neutro detersa** (grafici 14-15) presenta in calibrazione risultati che appaiono in linea con gli altri studi (Fekuda et al., 2010; Andrés et al., 2005; Danieli et al., 2004). Ciò nonostante, nel passaggio in cross validazione la fibra neutro detersa è risultata il parametro per cui si sono verificate le maggiori cadute in termini di precisione. D'altronde, questo parametro non rappresenta un costituente dei foraggi ma una proprietà che descrive più componenti: emicellulose, cellulosa e lignina e ceneri acido insolubili. Inoltre, nel nostro studio la fibra neutro detersa appare molto variabile comprendendo valori compresi tra 26,9 e 70,9. Fekadu et al. (2010) considerando un range di valori inferiore (52,1-79,4) ottengono, comunque un SEC piuttosto alto e uguale a 4,44 in calibrazione e 4,69 in cross validazione con R^2 inferiori a quelli ottenuti nel nostro studio. Al contrario, Danieli et al. (2004) riportano errori piuttosto bassi anche in cross validazione ottenendo un SECV di 2,17. Reeves (1994) e Fekuda et al., 2010, attribuiscono la perdita di precisione della calibrazioni all'ampia variabilità della popolazione considerata. Inoltre, una review (Girger-Reverdin, 1995) ha concluso che il NIRS è considerato un ottimo metodo per stimare la parete cellulare se i foraggi appartengono alla medesima famiglia botanica.

Grafico 14 Predizione NDF in calibrazione

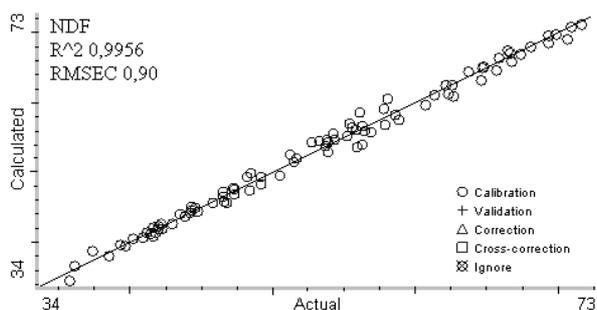
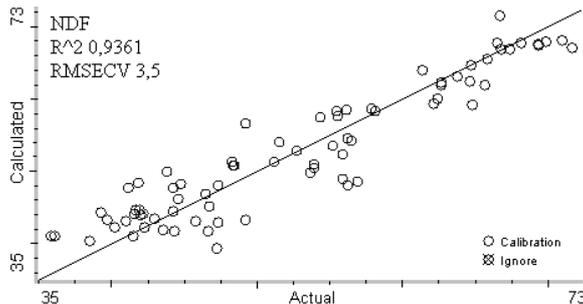


Grafico 15 Predizione NDF in cross validazione



La **lignina** (grafici 16-17) presenta un coefficiente di determinazione elevato e bassi RMSE sia in calibrazione sia in cross validazione. Le ricerche sulle essenze di pascoli presenti in bibliografia mostrano risultati sempre inferiori: Danieli et al. (2004) ottengono coefficienti di determinazione in calibrazione e validazione rispettivamente di 0,58 e 0,44; Fekuda et al. (2010) di 0,77; Andres et al. (2005) di 0,65. Questi autori attribuiscono i modesti risultati agli alti livelli di errore della procedura chimica-analitica primaria. Tuttavia, altri studi in linea con quello da noi proposto riportano calibrazioni per la lignina migliori rispetto alla fibra acido detersa (Garcia-Ciudad et al., 1993).

Grafico 16 Predizione Lignina in calibrazione

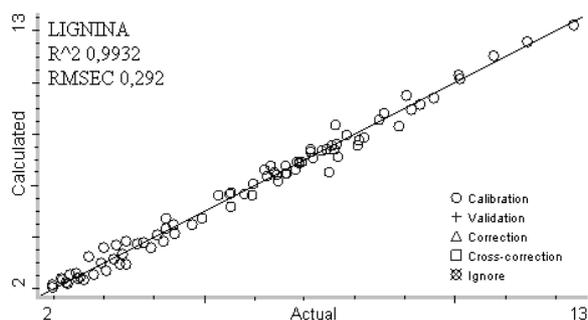
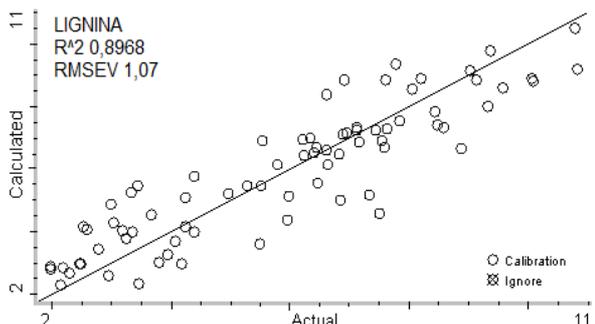


Grafico 17 Predizione Lignina in cross validazione



Le **Unità Foraggiere Latte e Carne** (grafici 18-21) sono i parametri che in calibrazione hanno mostrato i risultati più modesti. D'altra parte le Unità foraggiere dovrebbero essere considerate un caso a sé in quanto questi parametri non sono rappresentati direttamente nella regione spettrale e di conseguenza la calibrazione è il risultato di una derivazione matematica. Anche secondo Alomar et al. (2009), per una buona stima lo spettro deve raccogliere segnali diretti dai legami chimici che sono rappresentativi del parametro. Anche gli RPD mostrano valori modesti per le Unità Foraggiere, secondo Goldshleger et al. (2013) risultati compresi tra 1,5 e 2,0 indicano la potenzialità del modello di distinguere solo tra valori alti e bassi.

Grafico 18 Predizione UFL* in calibrazione

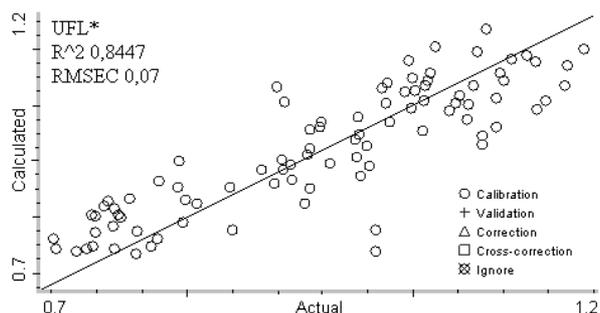


Grafico 19 Predizione UFL* in cross validazione

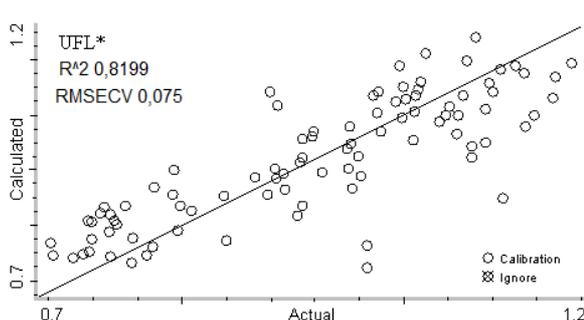


Grafico 20 Predizione UFC* in calibrazione

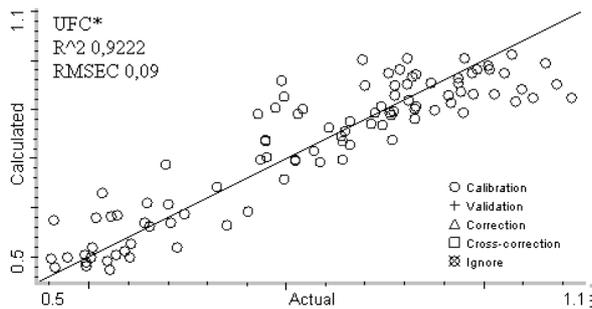
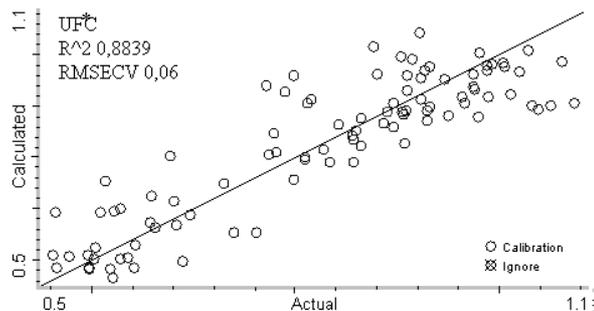


Grafico 21 Predizione UFC* in cross validazione



Nella tabella 3 sono riportati i risultati della calibrazione e della cross validazione per le erbe dei pascoli fresche che non sono state sottoposte a trattamenti di conservazione per la lettura NIRS. Anche in questo caso, per ogni parametro sono riportati il numero di campioni utilizzati, il range della composizione chimica a cui si fa riferimento, i coefficienti di determinazione, gli errori quadratici medi e i trattamenti matematici utilizzati.

I risultati migliori nel 60% dei parametri sono stati conseguiti applicando il trattamento matematico PLS, mentre per l'altra parte delle calibrazioni sono stati ottenuti in PCR.

Tabella 3 Risultati della calibrazione e della cross validazione per l'erba fresca.

Parametro	Un. Mis.	N	Range	R ² calibration	RMSEC calibration	R ² Validation	RMSEV validation	Tratt. Mat.
Sost. secca	%	75	11,14-52,79	0,8650	3,55	0,8100	4,16	PLS
				0,9318	2,48	0,8336	3,75	PCR
Prot. g.	%	70	7,36-26,71	0,9083	1,76	0,6980	3,10	PLS
				0,7355	2,61	0,6046	3,08	PCR
Ceneri	%	70	3,39-13,73	0,3983	1,61	0,2949	1,69	PLS
				0,5458	1,34	0,2075	1,74	PCR
Lipidi g.	%	74	1,25-3,84	0,2355	0,398	0,0602	0,416	PLS
				0,3795	0,360	0,1357	0,422	PCR
Fibra g.	%	74	18,38-41,48	0,6374	3,84	0,5349	4,29	PLS
				0,7167	3,48	0,5638	4,31	PCR
NDF	%	75	21,34-48,84	0,7579	4,87	0,6263	5,87	PLS
				0,7591	4,86	0,6841	5,50	PCR
ADF	%	75	30,82-71,33	0,8529	3,03	0,6797	5,06	PLS
				0,8238	3,29	0,7007	4,26	PCR
Lignina	%	75	1,72-11,84	0,7688	1,70	0,7093	1,88	PLS
				0,7893	1,63	0,7132	1,88	PCR
UFL*	kg/ss	76	0,80-1,14	0,6416	0,077	0,4848	0,091	PLS
				0,6631	0,075	0,4810	0,095	PCR
UFC *	Kg/ss	73	0,68-1,09	0,6843	0,091	0,6358	0,091	PLS
				0,6682	0,0853	0,4653	0,105	PCR
UFL**	Kg/ss	76	0,69-1,31	0,7264	0,110	0,6305	0,126	PLS
				0,7566	0,092	0,6045	0,124	PCR
UFC**	Kg/ss	73	0,55-1,28	0,7643	0,107	0,6659	0,127	PLS
				0,6843	0,091	0,6358	0,097	PCR

* Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra grezza

** Unità foraggiere calcolate tenendo in considerazione la digeribilità della fibra acido detersa

Rispetto alla prova precedente in cui i campioni di erba sono stati essiccati e macinati, nei campioni freschi (sottoposti a lettura spettrale in porzioni di 2-3 cm), i coefficienti di determinazione e gli errori quadratici medi sono risultati peggiori per tutti i parametri. In cross validazione i coefficienti di determinazione sono apparsi sempre piuttosto bassi ad esclusione della sostanza secca. Anche Lugassi et al.(2015) in una ricerca con lo scopo di stimare la qualità dei pascoli considerando i parametri P.G. e NDF tramite la tecnica NIR-SWIR, ottengono coefficienti di determinazione e livelli di precisione molto bassi. Inoltre, secondo Lugassi et al. (2015) la capacità di stima e l'accuratezza aumentano proporzionalmente se le crescenti percentuali di letture spettrali di campioni freschi sono sostituite da quelli essiccate. Nella calibrazione delle erbe fresche, come nelle erbe essiccate, i risultati migliori sono stati ottenuti per le proteine e la sostanza secca ma rispetto alla prova precedente nel passaggio in cross validazione la perdita di precisione è superiore. Nel caso delle **proteine** l'elevata differenza fra i valori in calibrazione e validazione può essere associata ad un eccessivo adattamento (*overfitting*) del modello: il metodo di regressione diventa sopra-specializzato nel descrivere i casi di calibrazione ma non adeguato all'intero range di dati. Lugassi et al. (2015), utilizzando uno strumento NIR-SWIR su erba fresca ottengono per le proteine un R^2 in calibrazione minore e corrispondente a 0,89 ma un valore più alto in validazione (0,88), mentre gli errori proposti, in termini di RMSE, sono più elevati in entrambi i casi rispetto allo studio da noi effettuato. Reddersen et al. (2013), utilizzando la spettroscopia portatile nella regione compresa tra 350 e 2500 nm per valutare la quantità di azoto contenuta nell'erba fresca ottengono un R^2 di 0,72 che risulta inferiore rispetto a quello della nostra prova, ma anche un SEC più basso e corrispondente a 0,27. Alomar et al. (2009) in campioni di foraggi freschi sottoposti a lettura NIRs riportano per le proteine un modello con maggiore capacità di stima utilizzando il sistemi di lettura NIR in riflettanza ma, risultati simili al nostro studio con il sistema di lettura in interattanza. Il coefficiente di determinazione più basso è stato quello mostrato dai **lipidi**. Tale parametro, insieme alle **ceneri** peggiora ancor più in validazione; dai valori emerge, infatti, che il modello riesce a predire solo una piccolissima parte della variabilità dei dati. I parametri relativi alle **componenti fibrose** evidenziano un andamento simile a quello degli stessi parametri delle erbe essiccate, con R^2 e RMSE in calibrazione e validazione più bassi. Anche in questa prova la migliore calibrazione è quella della lignina, seguita dalla fibra acido detersa e dalla neutro detersa. In questo caso però la fibra grezza è il parametro della parete cellulare che riesce a essere stimato con meno precisione e con errore maggiore. Relativamente alla fibra neutro detersa Lugassi et al. (2015), per le erbe fresche utilizzando le metodologia NIR- SWIR riportano migliori coefficienti di determinazione ma errori nettamente peggiori (11.5 e 12.2). Alomar et al. (2009) utilizzando il NIRS con sistema di interazione di riflettanza riportano una capacità di stima in validazione non migliore di quella ottenuta nel nostro studio, al contrario con il sistema in riflettanza sembra che il modello di stima si adatti meglio. Una situazione simile si verifica per il parametro fibra acido detersa confrontando la ricerca di Alomar et al. (2009) con il nostro studio: con interazione di riflettanza ottengono una capacità di stima lievemente inferiore a quella da noi ottenuta, mentre in riflettanza i risultati sono migliori. Sia per il parametro ADF che per l'NDF, oltre che in base al sistema di acquisizione spettrale, i risultati devono essere considerati in relazione al range di variabilità che appare più piccolo nella ricerca di Alomar et al., (2009). A ciò si aggiunge il fatto che nel nostro studio sono stati valutati un numero di campioni inferiore. Come per gli altri parametri, rispetto alla prova condotta sulle erbe essiccate, i coefficienti di determinazione delle **Unità Foraggere** mostrano valori più bassi. Considerando gli R^2 in associazione ai diversi parametri del valore nutritivo si nota la maggiore capacità del NIRS di

stimare le Unità Foraggiere Carne rispetto alle Unità Foraggiere Latte sia per i valori ottenuti a partire dalla fibra grezza sia per quelli che si basano sulla fibra acido detersa. Secondo Park et al. (1998) le calibrizioni NIRS effettuate su campioni di fieno non essiccato sono meno precise rispetto agli stessi campioni essiccati a causa degli effetti che l'acqua causa su alcuni tratti dello spettro in correlazione con i legami N-H.

Nei grafici 22-31 è riportato l'andamento delle calibrizioni per i parametri chimici e nutrizionali delle erbe fresche.

Grafico 22 Predizione SS in calibrazione

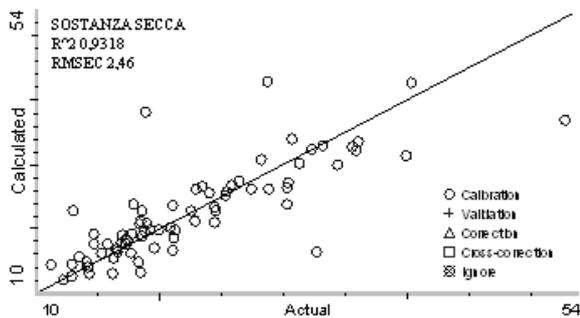


Grafico 23 Predizione Proteine in calibrazione

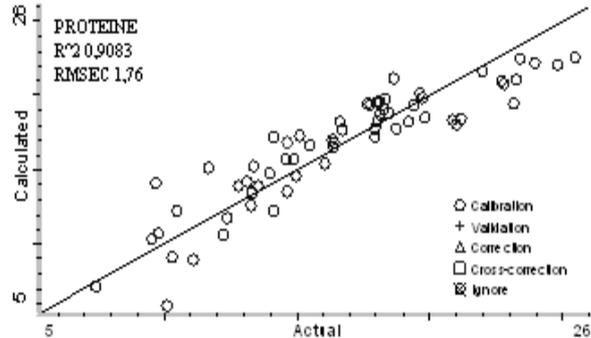


Grafico 24 Predizione Ceneri in calibrazione

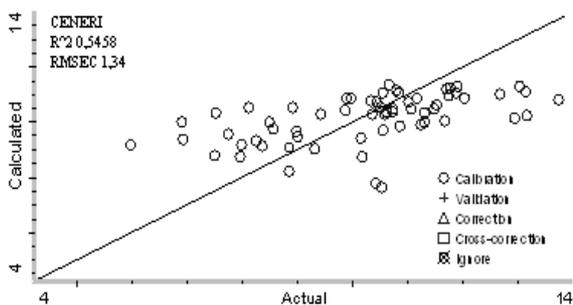


Grafico 25 Predizione Lipidi in calibrazione

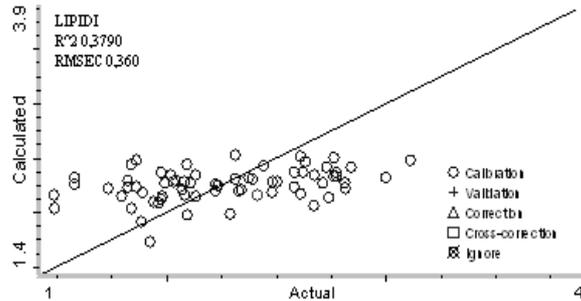


Grafico 26 Predizione Fibra g. in calibrazione

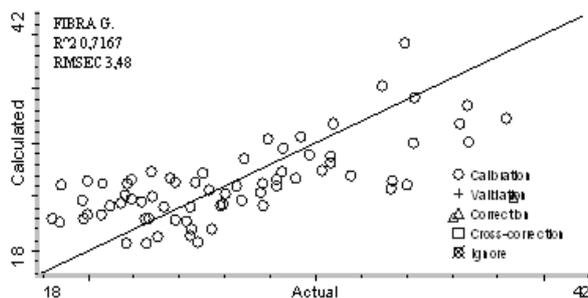


Grafico 27 Predizione NDF. in calibrazione

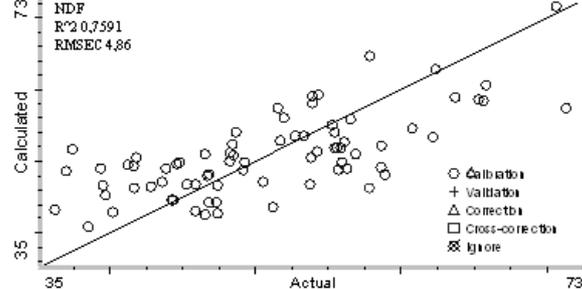


Grafico 28 Predizione ADF in calibrazione

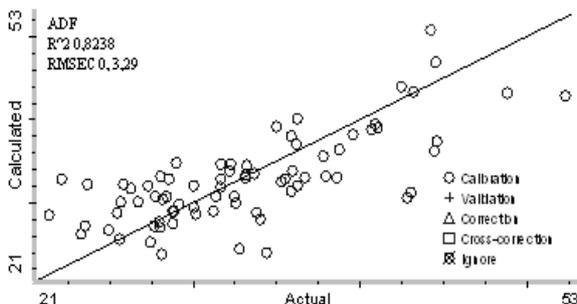


Grafico 29 Predizione Lignina in calibrazione

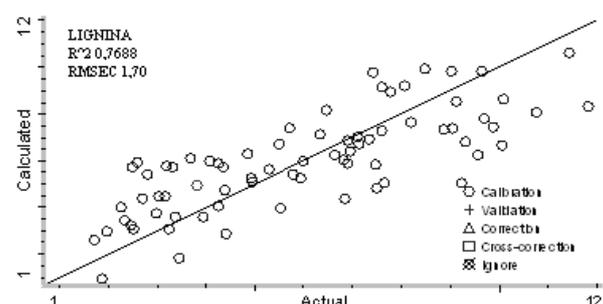


Grafico 30 Predizione UFL** in calibrazione

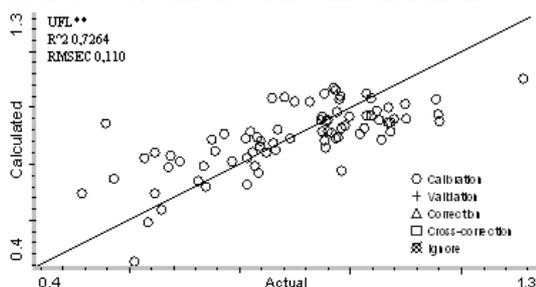
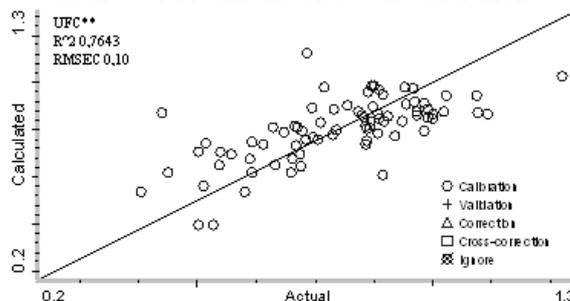


Grafico 31 Predizione UFC** in calibrazione



Nella tabella 4 sono mostrati i risultati del parametro umidità in riferimento alla lettura spettrale NIRS di erbe fresche: macinate e suddivise in frammenti di dimensione di 2-3 cm.

Tabella 4 Calibrazione e validazione di campioni di erba fresca in diverse modalità di preparazione

Parametro	U.M.	N	Range	R ²	RMSEC	R ²	RMSEV	Tratt. Mat.
Umidità 0,1mm	%	48	50- 83	0,9908	1,28	0,9829	1,75	PCR
Umidità 2-3 cm	%	48	50- 83	0,9814	1,67	0,9726	2,02	PCR

Dai risultati emerge che per i campioni di erba macinati la capacità di stima del NIRS appare lievemente più precisa sia in calibrazione che in validazione; con RMSE di poco più bassi. In tutti i casi comunque è stato applicato il multiplicative scatter correction come pre-elaborazione al fine di rendere i campioni omogenei alla lettura spettrale correggendo i segnali causati dal rumore e legati alla rifrazione della luce o al percorso ottico di ciascun campione. Dalla modesta differenza dei risultati ottenuti, si deduce quindi che i campioni di erba sottoposti a macinazione e resi maggiormente omogenei forniscono una stima solo poco più accurata del parametro considerato.

Se tale concetto viene considerato in senso più ampio e associato alle prove precedenti, corrispondenti a erbe essiccate sottoposte a lettura NIRS come macinati e erbe fresche analizzate in frazioni di dimensioni ridotte, si deduce che le differenze in termini di R² e RMSE non possono essere l'unico effetto delle diverse dimensioni e della maggiore o minore omogeneità dei campioni nella lettura spettrale.

9.3 Conclusioni

L'alta variabilità osservata nella composizione chimica e nel valore nutrizionale delle erbe dei pascoli analizzati rappresenta un elemento positivo nella calibrazione NIRS soprattutto per la successiva applicazione a un data set di campioni appartenente a risorse botaniche complesse differenti per altitudine e stadio vegetativo.

La calibrazione delle erbe di pascoli polifiti della Toscana, eseguita utilizzando un modello PLS, ha mostrato stime adeguate per tutti i parametri della composizione chimica in termini di coefficiente di determinazione, errore quadratico medio e RPD. Le migliori stime sono state ottenute per proteine, sostanza secca, lignina, lipidi, fibra acido detersa. In cross validazione tutti i risultati sono stati lievemente più bassi, probabilmente a causa del numero ridotto di campioni. La minor capacità di stima è stata mostrata per le componenti ceneri, mentre gli errori maggiori sono stati evidenziati nella fibra grezza e nella neutro detersa, probabilmente a causa dell'elevato numero di costituenti che queste rappresentano. Effettivamente, sembra che se i parametri non sono rappresentati direttamente nella regione spettrale il NIRS ottiene una capacità di stima modesta. E' il caso delle Unità Foraggere in cui la calibrazione può essere considerata il risultato di una derivazione matematica. Emerge quindi che per una buona stima lo spettro deve raccogliere segnali diretti dai legami chimici che sono rappresentativi del parametro e deve essere presente un numero di campioni adeguato alla variabilità che rappresentano.

L'applicazione del NIRS si è comunque dimostrata in grado di stimare la composizione chimica delle erbe di pascoli polifiti con accuratezza e precisione, utilizzando la preparazione del campione con metodo tradizionale (essiccato), mentre minori potenzialità sono associate alla stima del valore nutrizionale. I campioni una volta sottoposti a lettura spettrale come erba fresca in dimensioni di 2-3 cm, hanno evidenziato una minor capacità risolutiva di calibrazione del NIRS per tutti i componenti considerati, probabilmente a causa degli effetti che l'acqua comporta su alcuni tratti dello spettro in correlazione con i legami N-H. Tuttavia i risultati ottenuti nella fase di calibrazione lasciano spazio per un ulteriore approfondimento sperimentale. L'utilizzo di questo strumento sul prodotto fresco, che consentirebbe di ridurre ulteriormente i costi ed i tempi di analisi, sembra ancora da perfezionare, e potrebbe essere necessario calibrare le curve di predizione su un set di dati più ampio. Inoltre, dalla prova che confronta campioni di erba fresca macinati e tagliati in dimensione di 2-3 cm si evidenzia una modesta differenza nei coefficienti di determinazione e negli errori. Si deduce quindi che i diversi risultati ottenuti nelle prove precedenti fra campioni freschi ed essiccati non possono essere associati soltanto alla differenza di modalità di preparazione considerata dei campioni sottoposti a lettura spettrale.

Concludendo, i risultati delle tre prove considerate per la valutazione della composizione chimica e del valore nutrizionale ci indicano che i fattori che influiscono sui modelli di stima e sui relativi errori NIRS sono molteplici e devono essere considerati in aggiunta fra loro. Infatti, è necessario un'ampia variabilità per la successiva applicazione della spettroscopia per la stima qualitativa con errori modesti delle erbe, ma il range considerato deve essere associato a un adeguato numero di campioni. Un ulteriore elemento influente riguarda lo stato di conservazione del campione che fornisce regioni spettrali disponibili per l'associazione con i costituenti delle erbe più o meno ampie. D'altro canto, nonostante il trattamento di MSC applicato, anche la modalità di preparazione dei

campioni come la dimensione e, probabilmente, la conseguente omogeneità hanno dei lievi effetti. Inoltre, il sistema di acquisizione spettrale causa dei risultati diversi nelle stime. Infine, non per rilevanza, e in accordo con altri Autori, si evidenzia la necessità di fare riferimento a metodiche analitiche chimiche accurate, precise e anche ripetibili.

9.4 Bibliografía

- Alomar D., Fuchslocher R., Cuevas J., Mardones R., Cuevas E., 2009. Prediction of the Composition of Fresh Pastures by Near Infrared Reflectance or Interactance-Reflectance Spectroscopy. *Chilean Journal of Agricultural Research* 69(2):198-206.
- Alomar D., Fuchslocher R., De Pablo M., 2003. Effect of preparation method on composition and NIR spectra of forage samples. *Animal Feed Science Technologies*, 107:191-200.
- Alomar D., Fuchslocher R., Stockebrand S., 1999. Effects of oven- or freeze-drying on chemical composition and NIR spectra of pasture silage. *Animal Feed Science and Technology*, 80:309-319.
- Andrés S., Giráldez F.J., López, S., Mantecón A.R., Calleja A., 2005. Nutritive evaluation of herbage from permanent meadows by near-infrared reflectance spectroscopy: 1. Prediction of chemical composition and in vitro digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:1564–1571.
- Andrés S., Murray I., Calleja A., Giraldez J., 2005b. Nutritive evaluation of forages by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 13:301-311.
- AOAC Association of Official Analytical Chemists, 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed., AOAC. Arlington. VI.
- Beth de Ondarza M., Ward R., 2013. *Accurate analysis: NIRS versus wet chemistry*. Hoard and Sons Company, Fort Atkinson, Wisconsin:129.
- Bittante G., Andreghetto I., Ramanzin M., 1990. *Fondamenti di zootecnica*. Liviana Editrice.
- Chang C.W., Laird D.A., Mausbach M.J., Hurburg C.R., 2001. Near Infrared reflectance spectroscopy, Principal regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65: 480-490.
- Danieli P.P., Carlini P., Bernabucci U., Ronchi B., 2004. Quality evaluation of regional forage resources by means of near infrared reflectance spectroscopy. *Italian Journal Animal Science*, 3: 363-376.
- De Boever J.L., Eeckhout W., Boucque C.V., 1994. The possibilities of near infrared reflectance spectroscopy to predict total-phosphorus and phytase activity in vegetable feedstuffs. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 42: 357-369.
- Deaville E.R., Flinn P.C., 2000. Near infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, In Ed Givens DI, Owen E, Oxford RFE and Omed HM. CAB International, Wallingford: 301–320.
- Fekadu D., Bediye S., Kehaliw A., Daba T., Getu Kitaw G., Assefa G., 2010. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for determination of chemical entities of natural pasture from Ethiopia. *Agriculture and biology journal of north America* Print: ISSN Online: 2151-7525, doi:10.5251/abjna.2010.1.5.919.9222151-7517.
- García-Ciudad A., García-Criado B., Pérez-Corona M.E., Vázquez de Aldana B.R., Ruano-Ramos A., 1993. Application of near infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63: 419–426 .
- Ginger Reverdin S., 1995. Review of methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 55: 295-334.

- Goldshleger N., Chudnovsky A., Ben-Binyam R., 2013. Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. *International Journal Remote Sensing* 34, 6079–6093.
- Hopkins A., 2000. *Grass Its Production and utilization*. Ed.III Blackwell Science: 440.
- INRA, 2010. *Alimentation des bovins, ovins e caprins*. Ed. Quae INRA, ISBN: 978-2-7592-0873-9:153-221.
- Kusumo B. H., Hedley C., Hedley M., Hueni A., Tuohy M., Arnold G., 2008. The use of diffuse reflectance spectroscopy for in situ carbon and nitrogen analysis of pastoral soils. *Australian Journal of Soil Research*, 46 (6–7):623–635. doi:10.1071/SR08118.
- Lobos I., Gou P., Hube S., Saldana R., Alfaro M., 2013. Evaluation of potential nirs to predict pastures nutritive value. *Journal of Science and Plant Nutrition* , 13 (2) 463-468.
- Lugassi R., Chudnovsky A., Zaady E., Dvash L., Goldshleger N., 2015. Estimating Pasture Quality of Fresh Vegetation Based on Spectral Slope of Mixed Data of Dry and Fresh Vegetation-Method Development. *Remote Sensing*, 7, 8045-8066. doi:10.3390/rs70608045
- Park R.S., Gordon F.J., Agnew R.E., Barnes R. J., Steen R.W.J., 1998. The use of near infrared reflectance spectroscopy on dried sample to predict biological parameters of grass silage. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 155-167
- Reddersen B., Fricke T., Wachendorf M., 2013. Effects of sample preparation on NIRS calibration of nitrogen, ash and NDFom content in extensive experimental grassland biomass. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 77-85.
- Reeves J.B., 1994. Use of near infrared reflectance spectroscopy as tool for screening treated forages and by-products. *Journal Dairy Science*, 77: 1030-1037.
- R Core Team 2013. *R : A language and environment for statistical computing*. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. URL : <http://www.R-project.org/>.
- Roberts C.A., Workman J., Reeves J.B., 2003. *Near Infrared Spectroscopy in Agriculture*. *Agronomy*, 44. Ed. Madison USA: 3-31, 231-267, 321, 411-438.
- Shenk J. S., Westerhaus M. O., 1993. *Analysis of agriculture and food products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*, ISI Monograph: 116.
- Shenk J.S., Westerhaus M.O., 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis, in *Forage Quality, Evaluation and Utilization*, ed by Fahey JrGC, Mosser LE, Mertens DR and Collins M. American Society of Agronomy/Crop Science Society of America/Soil Science Society of America, Madison, WI : 406–449.
- Stuth J., Abdi J., Tolleson D., 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research* 84:45-56.
- Thermo Fischer Scientific, 2011. *TQ Analyst Software: User Guide*, Madison WI, U.S.A.: 25-223
- Van Kempen T., 2001. Infrared technology in animal production. *Word's Poul. Science Journal*, 57: 29-48.
- Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597
- Van Soest P. J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Second edition. Cornell University Press, Ithaca and London, USA.

- Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Windham W.R., Hills N.S., Stuedemann J.A., 1991. Ash in forage esophageal and fecal samples analyzed using near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science*, 1345-1349.
- Williams P.C., 1987. Variables affecting near infrared reflectance spectroscopic analysis. In: Williams P., Norris K., 1987. *Near Infrared Technology and Food Industries*. American Association of cereal Chemists Inc., Saint Paul:143-167.
- Williams P. C., Sobering D., 1995. How do we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. In Daves A. M. C., Williams P., C. (Eds.), *Near infrared spectroscopy: The future waves* Chichester.UK: NIR Publications: 185–188.
- Williams P.C., 2001 Implementation of near-infrared technology. In Williams, P., and K. Norris (ed.) *Near-Infrared technology in the agricultural and food industries*. American Association of Cereal Chemists (AACC), St. Paul, Minnesota, USA: 145-169.

CAPITOLO 10

10. Conclusioni generali

Lo studio sulla caratterizzazione dei pascoli della Toscana ha evidenziato un'ampia variabilità dei parametri che esprimono le caratteristiche quanti-qualitative di questa risorsa naturale, da considerare sicuramente in risposta al vasto range di fattori ambientali e biologici influenti, ed alla loro interazione, principalmente altimetria, rapporto graminacee/leguminose, stadio vegetativo.

In particolare, a parità di fattori pedoclimatici (altitudine) i parametri che definiscono la quantità e la qualità dell'erba dei pascoli sono fortemente condizionati dalla fase fenologica delle essenze presenti. Ad entrambi i livelli altitudinali considerati i pascoli forniscono quantità di fitomassa crescente con l'avanzare della stagione vegetativa, tuttavia l'erba ha valore nutritivo maggiore nei primi stadi fenologici e tale valore diminuisce progressivamente a tal punto che, dal secondo stadio fenologico in poi (prefioritura), non si verifica un aumento di U.F. ad ettaro. Queste variazioni risultano molto più evidenti nei pascoli di pianura-collina, mentre i pascoli delle zone montane mostrano maggiore costanza di apporti nutritivi nel procedere della stagione vegetativa.

Nel complesso le erbe dei pascoli della Toscana hanno mostrato alte potenzialità nutrizionali, sia in termini di energia che di proteine, per kg/ss, rispetto a quelli di altri territori studiati, seppure con un'ampia variabilità. La molteplice chiave di lettura proposta nelle tabelle informative, costruite ai fini tecnico-applicativi e contenenti la composizione chimico-nutrizionale, permette di utilizzarle in situazioni territoriali più ampie per la stima degli apporti nutrizionali dei pascoli e per la stesura dei piani alimentari delle specie ruminanti. Si sottolinea, comunque, la necessità di arricchire il data base analitico qualora si voglia acquisire notizie più aderenti alle varie realtà presenti sul territorio, anche se non è da sottovalutare l'alto costo in termini di impegno tecnico, tempi di ritorno dei risultati, costo analitico dei medesimi, quando si utilizzano le metodologie tradizionali. Le prove successive hanno infatti lo scopo di risolvere questo aspetto attraverso la messa a punto di metodi rapidi ed economici, per la stima del valore nutritivo.

Lo studio del colore, per la stima della qualità delle erbe dei pascoli, ha evidenziato che i valori di tutte le coordinate colorimetriche corrispondono a quelli effettivamente visibili e sono associati all'evoluzione delle fasi fenologiche dell'erba dei pascoli. In particolare l'indice del rosso è risultato significativamente correlato con la composizione chimico-nutrizionale delle erbe. Tuttavia, i modesti coefficienti di determinazione ottenuti si sono tradotti in una scarsa capacità predittiva del colore per questi parametri che in definitiva ne rendono scarso l'interesse applicativo.

Più promettente è apparsa l'applicazione della spettroscopia nel vicino infrarosso per la stima della composizione chimica e del valore nutrizionale delle erbe dei pascoli. La calibrazione dei NIRs per le erbe dei pascoli polifiti della Toscana, sottoposte preventivamente a essiccazione, ha mostrato risultati di stima accurati e precisi per i parametri della composizione chimica in termini di coefficiente di determinazione, di errore quadratico medio e di RPD. Tuttavia, una capacità di stima più modesta è stata mostrata per i parametri che rappresentano più componenti e che non sono associati direttamente allo spettro nel vicino infrarosso. L'utilizzo del FT-NIRS sull'erba fresca, che consentirebbe di ridurre ulteriormente i costi ed i tempi di analisi, sembra quindi ancora da perfezionare. Ciò nonostante i risultati ottenuti nella fase di calibrazione, lasciano spazio per un ulteriore approfondimento sperimentale che preveda un set di dati numericamente più elevato.

Inoltre, sono state evidenziate solo moderate differenze fra le modalità di lettura spettrale di campioni freschi macinati e tagliati per il parametro considerato.

Infine, nonostante l'ampia variabilità osservata nella composizione chimica e nel valore nutrizionale, appare evidente la potenzialità applicativa della spettroscopia nel vicino infrarosso a risorse botaniche complesse differenti stadio vegetativo e per altitudine, quali le erbe di pascoli naturali.

RINGRAZIAMENTI

*Ringrazio chi mi ha dato fiducia, chi mi ha aiutato, chi mi ha incoraggiato
ma, anche, chi mi ha "sopportata"*

*Grazie, a tutti coloro che mi sono stati vicini e
mi hanno "strappato" un sorriso nei momenti difficili.*

*Una particolare gratitudine va a Enrico e a Renzo,
per avermi accompagnato sulla cima delle montagne,
alla Prof.ssa Acciaioli per l'intuito ed il prezioso sostegno
e al Prof. Bozzi per il tempo dedicato alla ricerca e senza il cui aiuto
questo lavoro non avrebbe avuto fine.*

*Infine, un pensiero dolce alla mia famiglia, agli amici, a B. e G.
perchè non mi hanno fatto sentire sola.*

DICHIARAZIONE

Con la presente affermo che questa tesi è frutto del mio lavoro e che, per quanto io ne sia a conoscenza, non contiene materiale precedentemente pubblicato o scritto da un'altra persona né materiale che è stato utilizzato per l'ottenimento di qualunque altro titolo o diploma dell'Università o altro istituto di apprendimento, a eccezione del caso in cui ciò venga riconosciuto nel testo. Una coppia della tesi sarà disponibile presso DISPAA.

<http://www.....unifi.it>

2015, Silvia Parrini