

Modello di scheda di sintesi finale

OPERAZIONE 16.2.01 – Progetti pilota e sviluppo dell'innovazione
Progetto di Sviluppo Rurale (PSR) della Regione Lombardia 2014-20

ACRONIMO: TvB4Meta

TITOLO: Il bovino da carne protagonista di uno studio sulla potenzialità di un'alimentazione integrata con Tannini, per modulare la popolazione microbica Batterica responsabile dell'emissione di Gas Metano

Il progetto ha voluto verificare se, attraverso un'alimentazione integrata con prodotti naturali quali i tannini, fosse possibile modulare l'attività del microbioma ruminale in particolare dei microrganismi metanogenici direttamente coinvolti nella produzione di metano. Tale studio è stato condotto realizzando un protocollo di indagine molecolare non invasivo nei confronti della routinaria attività aziendale.

Gli attori

SO.CO.BE.V. s.r.l. - **capofila** del progetto – si è occupata di gestire la stabulazione degli animali interessati dalla ricerca (bovini di razza Charolaise), e di pianificare la razione alimentare in sinergia con l'azienda mangimistica. **SO.CO.BE.V.** ha provveduto alla raccolta dei campioni, alla loro successiva conservazione ed invio al laboratorio di Genetica Molecolare dell'Istituto Spallanzani, e alla raccolta dei dati produttivi degli animali coinvolti nello studio.

La Società Agricola **F.Oli.Ma.N.** - partner di progetto - si è occupata di gestire la stabulazione degli animali interessati dalla ricerca (bovini di razza Limousine), e di pianificare la razione alimentare in sinergia con l'azienda mangimistica **F.Oli.Ma.N.** ha provveduto alla raccolta dei campioni, alla loro successiva conservazione ed invio al laboratorio di Genetica Molecolare dell'Istituto Spallanzani, e alla raccolta dei dati produttivi degli animali coinvolti nello studio.

Il mangimificio **COMAZOO scarl** - partner di progetto - ha formulato e realizzato il mangime additivato con i tannini, si è occupato della definizione del piano di razionamento degli animali coinvolti nello studio ed ha supportato le due aziende agricole nella fase di somministrazione delle razioni alimentari durante il periodo di sperimentazione.

L'ente di ricerca **Istituto Spallanzani** - partner e coordinatore scientifico del progetto - si è occupato della classificazione tassonomica dei microrganismi metanogeni presenti nelle feci degli animali coinvolti nello studio tramite il metabarcoding, tecnica di sequenziamento di ultima generazione, che consente di identificare le specie presenti all'interno di un singolo campione. Tale attività ha previsto l'allestimento di una biobanca, l'estrazione di DNA, l'amplificazione tramite PCR, il sequenziamento e l'analisi bioinformatica dei dati. Tutti i partner de progetto sono stati convolti a diverso titolo nella condivisone e divulgazione dei dati ottenuti.

Gli obiettivi

L'idea progettuale è scaturita dalla volontà di rispondere ad importanti criticità del settore zootecnico in ambito di sostenibilità ambientale e alla distorta percezione che i consumatori hanno della tecnologia applicata all'allevamento intensivo. Nel contesto l'innovazione del progetto riguarda la valorizzazione di sistemi per la riduzione delle emissioni di metano passando attraverso un'ottimizzazione della produttività aziendale e attuando scelte alimentari calibrate all'obiettivo di contributo effettivo alla sostenibilità ambientale, traducibile poi nell'intenzione di sviluppare pratiche aziendali volte alla mitigazione dei gas climalteranti. Numerose sono le strategie di mitigazione che potenzialmente si potrebbero applicare negli allevamenti di tipo intensivo, al fine di contenere la produzione di metano che deriva dalla fermentazione enterica e dalle defezioni. Tra queste risultano particolarmente interessanti quelle che prevedono l'applicazione di pratiche e soluzioni innovative applicate all'alimentazione e che si avvalgono di sostanze in grado di modificare l'assetto della popolazione microbica direttamente coinvolta nella produzione fisiologica del metano enterico.

Le azioni di ricerca hanno quindi previsto una fase di formulazione e produzione di un mangime additivato con tannino e la realizzazione di un piano alimentare specifico per la categoria animale interessata, la somministrazione dell'alimento ed il contestuale monitoraggio dei dati produttivi; il recupero dei campioni, la caratterizzazione delle comunità microbiche tramite lo sviluppo di un protocollo molecolare di ultima generazione e la partecipazione ad eventi e servizi di informazione e divulgazione dedicati al comparto.

TvB4Meta si collega ad altre attività realizzate nel recente passato dalle parti coinvolte dell'Istituto Spallanzani e di Comazoo. In particolare, le attività di sostenibilità ambientale intraprese dall'Istituto Spallanzani rappresentano al meglio l'impegno dell'ente nel perseguire i propri obiettivi del tutto coerenti con quelli riconducibili all'attività progettuale proposta. Più nel dettaglio, il progetto **"Use of microalgae to mitigate nitrogen pollution from agricultural wastewaters (Mlcrogate)"** finanziato da Cariplo ha valutato la fattibilità dell'utilizzo delle microalghe per rimuovere l'azoto ammoniacale dalle acque di rifiuto di origine agro-zootecnica e nell'ambito di questo studio sono state caratterizzate le comunità microalgali e batteriche con tecniche di sequenziamento di ultima generazione. Nel progetto **"Sviluppo ed integrazione tecnologica di una piattaforma High-Throughput per il miglioramento sostenibile dei processi produttivi delle filiere dell'agroalimentare (AGRIHUB)"** finanziato dal Bando Call HUB Ricerca e Innovazione di Regione Lombardia, l'Istituto Spallanzani è stato coinvolto nell'identificazione e valutazione in vitro dell'effetto di nuovi formulati a base di peptidi attivi con azione antimicrobica per impiego in zootecnia. Nel progetto **New Technologies for Cheese production (NEWTECH)** finanziato dal MIpaaf, l'Istituto Spallanzani è stato coinvolto nella linea di ricerca **"Approcci innovativi per la lotta alla contraffazione nelle produzioni DOP del settore caseario (Grana Padano)"** che ha comportato l'analisi delle informazioni ottenute dallo studio delle variazioni nella diversità genetica complessiva della microflora e dei "residui vegetali" nel latte mediante tecniche di metabarcoding.

Comazoo ha acquisito negli anni competenze nel settore della valorizzazione del settore agro-zootecnico e nella realizzazione di progetti di ricerca che hanno portato allo sviluppo di nuove tecnologie e prodotti. **Low EmiSSion farming - Produzioni zootecniche lombarde a basse emissioni, eco compatibili e resilienti**, finanziato da Regione Lombardia ha l'obiettivo di diffondere le informazioni e l'innovazione disponibili riguardo le buone pratiche in campo e in stalla per la riduzione delle emissioni di gas ad effetto serra (GHG) e di ammoniaca provenienti dal settore agricolo lombardo, con particolare riferimento all'allevamento delle bovine da latte e dei suini. Il progetto **LIFE09 ENV/IT/000208 - AQUA Achieving good water Quality status in**

intensive Animal production areas è stato dedicato a dimostrare come ottimizzando l'utilizzo dei nutrienti di origine agricola nelle aziende zootecniche è possibile ridurre l'inquinamento delle acque sotterranee e superficiali. **Sostenibilità e diversificazione produttiva nella filiera del latte vaccino - Smart & Green Milk**, finanziato nell'ambito del Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2014-2020 della Regione Lombardia, ha perseguito l'obiettivo ambientale "incentivare l'uso efficiente delle risorse e il passaggio a un'economia a basse emissioni di carbonio e resiliente al clima nel settore agroalimentare". Comazoo è stato partner del progetto, fornendo l'assistenza nutrizionale specifica per la valutazione delle buone pratiche di razionamento finalizzate alla riduzione dell'impronta del carbonio.

I risultati ottenuti e le nuove conoscenze acquisite

Il cambiamento climatico è un problema attuale e va affrontato contemporaneamente da tutte le attività coinvolte nell'emissione di gas ad effetto serra. Il settore zootecnico riveste un ruolo importante nell'emissione in atmosfera di gas ad effetto serra (GHGs). In particolare, i bovini, in quanto ruminanti, partecipano in modo rilevante alla produzione ed emissione di metano, tanto da ricoprire il 79,6% di tutto il CH₄ emesso dalle fermentazioni enteriche sul territorio italiano (38,6% bovini da carne e 41% bovini da latte). La riduzione dell'emissione di metano ruminale da parte dei bovini da carne tramite la somministrazione di diete integrate con tannini è stata già comprovata da diversi studi. In fase di presentazione del progetto poche erano le indagini specifiche sulla popolazione di Archaea metanogeni nel microbiota intestinale e sulla modulazione della produzione di metano a livello di intestino crasso. La prima sfida del progetto è stata quindi quella di valutare se il microbiota intestinale rispecchiasse in buona parte quello che accade a livello ruminale, in modo che potesse rappresentare un'alternativa allo studio del liquido ruminale, il cui campionamento risulta essere molto invasivo a prescindere dalla metodica utilizzata. Al contrario, la raccolta di feci, che avvenga da ampolla rettale o da pool di feci già depositate, risulta essere più agevole e meno stressante per gli animali.

Il progetto TvB4Meta ha voluto valutare se l'integrazione con circa l'1% di tannino sulla sostanza secca ingerita da ciascun animale potesse avere un effetto modulante anche sulla popolazione di Archaea metanogeni nel microbiota intestinale attraverso un approccio sperimentale non invasivo su bovini di razza Charolaise e Limousine. La sperimentazione ha interessato bovini da carne in fase di ingrasso e finissaggio. In entrambe le aziende l'ingestione del gruppo di animali alimentati con la dieta integrata con tannini non ha subito variazioni nel corso del trattamento, né in termini di sostanza secca né di prodotto tal quale facendo presupporre che l'integrazione di tannino testata non ha influenzato l'appetibilità e l'ingombro ruminale della razione. A fine trattamento il peso vivo (kg) degli animali è aumentato con un tasso di incremento ponderale simile nei due gruppi e anche l'indice di conversione alimentare e la resa alla macellazione (%) sono risultati pressoché invariati in entrambi i gruppi.

Il sequenziamento NGS con metabarcoding e l'analisi metatassonomica tramite l'approccio Amplicon Sequence Variants (ASV) hanno evidenziato che il DNA estratto apparteneva per il 99% al Phylum *Euryarchaeota* e i generi osservati in maggior abbondanza corrispondono a *Methanobrevibacter spp.* (95%) e *Methanospaera spp.* (4%). Questi risultati si trovano in accordo con altri studi sul microbiota fecale di bovini da carne e confermano ulteriormente che i protocolli molecolari sviluppati nell'ambito del progetto sono risultati adeguati ad approfondire lo studio del microbiota intestinale. In relazione al trattamento con tannino, i risultati dell'analisi metatassonomica hanno riportato differenze statisticamente significative (p -value < 0,05) in entrambe le aziende (Limousine con p -value = 0,015 e Charolaise con p -value = 0,001). I risultati ottenuti meritano un ulteriore approfondimento in quanto la differenza di abbondanza dei due generi di Archaea riscontrata potrebbe essere dovuta alla gestione aziendale (metodo di distribuzione manuale/unifeed), alla razza e/o al sesso (Limousine maschi/ Charolaise femmine). I risultati del progetto

rappresentano quindi un punto di partenza per svolgere ulteriori studi per valutare l'effetto del tannino sulla metanogenesi intestinale in relazione al quantitativo somministrato, alla razza e al sesso dei bovini.

Durante lo svolgimento del progetto sono stati caricati gli aggiornamenti e le news sui siti web istituzionali di Spallanzani e Comazoo. Sono stati prodotti e distribuiti dei flyer divulgativi presso gli stand di Regione Lombardia allestiti per le fiere BOVIMAC (Gonzaga, 24-26 novembre 2023) e Fiera Internazionale Bovino da Latte (Cremona, 30 novembre-2 dicembre 2023). I primi risultati del progetto sono stati divulgati durante il convegno "Il metabarcoding a servizio dei Green House Gas: nei bovini da carne può un'alimentazione integrata con tannini modulare la popolazione di batteri metanogeni?" tenutosi a Verona il 2 febbraio 2024 nell'ambito della Fiera Agricola Internazionale di Verona. A ottobre 2024, nell'ambito del 32nd International Symposium Animal Science Days svoltosi in Carinzia è stato presentato il lavoro "Metabarcoding for the Green House Gases (GHGs): effect of dietary tannins on fecal microbiome in beef cattle".

Altre informazioni

| | |
|-------------------------------|--|
| Spesa totale ammessa progetto | 204.565,60 € |
| Contributo ammesso progetto | 167.266,48 € |
| Durata in mesi | 24 |
| Focus Area | 5D: ridurre le emissioni di gas effetto serra e di ammoniaca prodotte dall'agricoltura |

Allegati: Flyer presentazione del progetto TVB4META