



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie

Corso di laurea in Produzioni Animali Innovative e Sostenibili

EFFETTI DI UN'INTEGRAZIONE ANTIOSSIDANTE AD ALTO DOSAGGIO SULLE PERFORMANCE E SULLA QUALITÀ DEL LATTE IN BOVINE SOTTOPOSTE A STRESS TERMICO

EFFECTS OF HIGH-DOSE ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION ON PERFORMANCE AND MILK QUALITY IN HEAT-STRESSED DAIRY COWS

Relatore:

Chiar.mo Prof. Massimo Malacarne

Correlatrice:

Dott.ssa Simoni Marica

Prof. Righi Federico

Laureando:
Cingillo Pietro

ANNO ACCADEMICO
2025 / 2026

ABSTRACT

Heat stress represents one of the most critical threats to the modern dairy sector, compromising animal welfare, productive performance, and farm profitability, with direct impacts on the Parmigiano Reggiano DOP supply chain. This study evaluated the efficacy of a high dose of antioxidant nutritional supplementation, consisting of Vitamin E, Selenium, and Zinc, in mitigating the negative effects of heat stress in Holstein cows.

The experiment was conducted on two homogeneous groups within an individual herd, monitored throughout the entire summer season (June–October). Results showed that the treated group maintained a higher dry matter intake (DMI) (+4.04%) compared to the control group, providing the organism with the necessary energy resources for thermoregulation without depleting body reserves. Supplementation favoured an increase in the transfer of Vitamin E into milk (+48.8%), a parameter that improves its oxidative stability and nutraceutical value, which is an essential requirement for the cheese long-aging process. At the reproductive level, protection against reactive oxygen species (ROS) showed a strong statistical trend towards increased pregnancies, which were improved by almost 70% (10/12 vs. 6/12; $p=0.083$), reducing management costs associated with reproductive inefficiency.

In conclusion, the results obtained suggest that tested antioxidant nutritional supplementation acts as an effective metabolic shield. Facing increasingly extreme climatic scenarios, a holistic approach, combining functional nutrition and environmental management, is currently indispensable to ensure economic sustainability and animal welfare in the dairy enterprise.

RIASSUNTO

Lo stress termico rappresenta una delle minacce più critiche per il settore lattiero-caseario moderno, compromettendo il benessere animale, le performance produttive e la redditività aziendale, con impatti diretti sulla filiera del Parmigiano Reggiano DOP. Questo studio ha valutato l'efficacia di un'integrazione nutrizionale antiossidante ad alto dosaggio, composta da vitamina E, selenio e zinco nel mitigare gli effetti negativi dello stress da caldo in bovine di razza Frisona.

L'esperimento è stato condotto su due gruppi omogenei all'interno di una mandria, monitorati durante l'intera stagione estiva (giugno-ottobre). I risultati hanno evidenziato che il gruppo trattato ha mantenuto un'ingestione di sostanza secca (DMI) superiore (+4,04%) rispetto al gruppo di controllo, fornendo all'organismo le risorse energetiche necessarie per la termoregolazione senza intaccare le riserve corporee. L'integrazione ha favorito un incremento del trasferimento di vitamina E nel latte (+48,8%), parametro che ne migliora la stabilità ossidativa e il valore nutraceutico, requisito essenziale per le lunghe stagionature. A livello riproduttivo, la protezione contro i radicali liberi (ROS) ha evidenziato una forte tendenza all'incremento delle gravidanze, arrivando quasi a raddoppiarne il numero (10/12 vs 6/12; $p=0,083$), abbattendo i costi gestionali legati all'inefficienza riproduttiva.

In conclusione, i dati suggeriscono che l'integrazione nutrizionale mirata agisce come un efficace scudo metabolico. Di fronte a scenari climatici sempre più estremi, il miglioramento genetico da solo risulta insufficiente: un approccio olistico, che combini nutrizione funzionale e gestione ambientale, è oggi indispensabile per garantire la sostenibilità economica e il benessere in stalla.

Sommario

ABSTRACT	4
RIASSUNTO	5
CAPITOLO 1: Lo stress da caldo nell'allevamento della bovina da latte	8
1.1 Il contesto climatico ed il ruolo della zootecnia nel surriscaldamento globale	8
1.2 Il contesto climatico in Emilia-Romagna	12
1.3 Fisiologia della termoregolazione.....	13
1.4 L'impatto sulla lattazione	16
1.5 L'importanza dell'allevamento bovino nel mondo e la sua sostenibilità.....	17
1.6 Gli allevamenti da Parmigiano Reggiano.....	18
CAPITOLO 2: Lo stress ossidativo e i suoi meccanismi biologici	20
2.1 Lo stress ossidativo: definizione e correlazione con lo stress da caldo	20
2.2 Specie reattive all'ossigeno – ROS	21
2.3 Conseguenze dello stress ossidativo in lattazione	22
CAPITOLO 3: Il sistema antiossidante e le strategie nutrizionali	24
3.1 Definizione e meccanismi d'azione degli antiossidanti.....	24
3.2 Strategie antiossidanti specifiche per la bovina da latte	25
3.3 Fonti alimentari e biodisponibilità	26
3.4 Fabbisogni di antiossidanti nella vacca in lattazione.....	28
CAPITOLO 4: Stato dell'arte: integrazione di antiossidanti in lattazione	32
4.1 Approccio classico: vitamine e oligoelementi.....	32
4.2 La nuova frontiera: polifenoli e composti bioattivi vegetali	33
4.3 Effetti delle diete antiossidanti sulla produzione e qualità del latte.....	35
4.4 Effetti sullo stato metabolico e immunitario	36
4.5 Effetti sulla fertilità	38
4.6 Limiti attuali e prospettive future	39
CONTRIBUTO SPERIMENTALE.....	41
INTRODUZIONE	41
MATERIALI E METODI	43
Animali soggetti allo studio	43
Gestione degli animali e strutture aziendali	44
Gestione della mungitura e dell'asciutta	45
Gestione alimentare generale	46
Gestione nutrizionale e formulazione del nucleo sperimentale	46
Campionamenti e analisi.....	49

Analisi dei campioni	52
Analisi statistica.....	53
RISULTATI E DISCUSSIONE	55
Analisi nutrizionale e copertura dei fabbisogni.....	55
Ingestione (DMI)	56
Performance Produttive.....	57
Profilo ossidativo sistemico (FRAP)	61
Bio-trasferimento della Vitamina E nel latte e vantaggi tecnologici	63
Dinamiche dello Zinco nel plasma e nel latte.....	64
Efficienza riproduttiva e tassi di concepimento.....	65
Conclusioni	68
Bibliografia	69

CAPITOLO 1: Lo stress da caldo nell'allevamento della bovina da latte

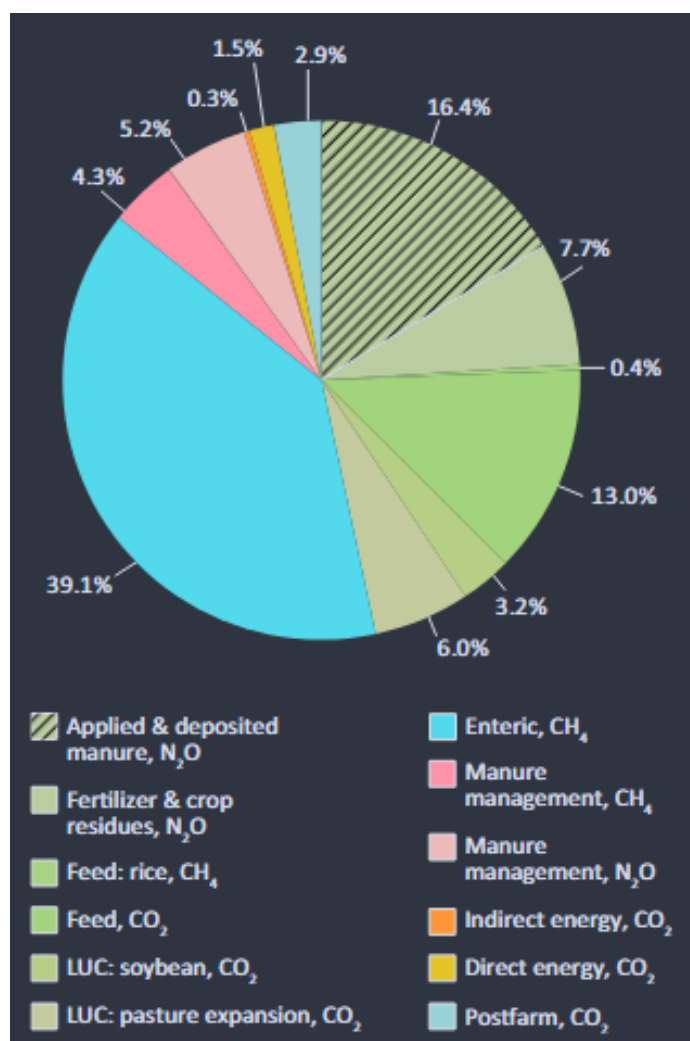
1.1 Il contesto climatico ed il ruolo della zootecnia nel surriscaldamento globale

Il surriscaldamento globale è un fenomeno, ad oggi, ampiamente documentato e, generalmente, constatato dalla comunità scientifica, la quale suggerisce come le attività antropiche siano la principale causa dell'aumento delle temperature registrato negli ultimi decenni (Gauly & Ammer, 2020). Secondo le analisi e i dati ottenuti dall'Intergovernmental Panel On Climate Change (IPCC) nel suo sesto rapporto di valutazione (rapporto di sintesi AR6), la temperatura media globale superficiale è destinata a subire un incremento stimato tra 1,4°C, negli scenari più ottimistici a bassissime emissioni, e 4,4°C, negli scenari peggiori con le più alte emissioni, entro il 2100 rispetto ai livelli storici preindustriali (IPCC, 2023). Questo aumento della temperatura non si manifesta esclusivamente con l'innalzamento delle medie stagionali, ma è accompagnato da un incremento della frequenza e dell'intensità di eventi meteorologici estremi, come gravi ondate di calore, alterazioni nei regimi di precipitazione e lunghi periodi di siccità (VanderZaag et al., 2023).

In questo contesto, il settore zootecnico riveste un ruolo ambivalente. Le produzioni animali, infatti, sono una delle principali cause delle emissioni di gas serra di origine antropica. Secondo la FAO (2006), la zootecnia sarebbe responsabile del 18% circa delle emissioni globali indotte dall'uomo, una quota superiore a quella generata dall'intero settore dei trasporti (Steinfeld et al., 2006). Per definire il reale impatto del settore, la letteratura scientifica utilizza l'approccio di valutazione del ciclo di vita (LCA – Life Cycle Assessment). Nel 2013, la FAO ha pubblicato un nuovo report che ha fatto maggiore chiarezza sulla questione, sottolineando che l'intera filiera zootecnica globale è responsabile del 14.5% di tutte le emissioni di gas serra di origine antropica (Gerber et al., 2013). Questo dato ricalibra la precedente stima del 18% del 2006 grazie a modelli previsionali più accurati.

Da questo valore calcolato del 14.5%, l'analisi ci mostra come la quota più grande, equivalente al 45% delle emissioni del settore, sia imputabile alla produzione e alla

lavorazione dei mangimi. Questa parte comprende il cambiamento d'uso del suolo (come la deforestazione in funzione di nuove aree da pascolo), l'impiego di fertilizzanti chimici e l'energia impiegata per le pratiche di coltivazione. La seconda quota più impattante (39%) è caratterizzata dalle fermentazioni enteriche ruminanti, quindi grandi quantità di metano (CH_4) prodotte fisiologicamente dai ruminanti durante il processo digestivo. A queste si somma un 10% derivato dalla gestione delle deiezioni, le cui fasi di stoccaggio e spandimento nei campi possono comportare il rilascio in atmosfera di metano e protossido d'azoto (N_2O). Ed infine abbiamo un restante 6%, associato alle fasi di lavorazione e logistica della filiera. Questa quota è legata al trasporto, alla refrigerazione e alla trasformazione dei prodotti di origine animale, come carne e latte (Gerber et al., 2013).



Parallelamente, sebbene le produzioni animali siano oggetto di studi approfonditi come fonte di emissioni, i sistemi zootecnici stessi risultano estremamente vulnerabili e sensibili ai cambiamenti climatici.

Gli effetti del riscaldamento globale costituiscono una seria minaccia per gli ecosistemi, la biodiversità vegetale e animale, e, di conseguenza, per l'approvvigionamento alimentare globale (Gauly & Ammer, 2020). Questo impatto è osservabile non solo in aree geografiche tradizionalmente calde, ma anche in zone a clima temperato come l'Europa centrale, dove si prevede che le estati diventeranno progressivamente più calde e secche (Gauly et al., 2013). A titolo esemplificativo, in alcune aree del nord della Germania, una regione con vocazione lattiero-casearia e caratterizzata da un clima oceanico temperato, i modelli previsionali indicano che entro il 2050 le precipitazioni estive si ridurranno del 15% e la temperatura media annuale aumenterà di 2°C (Gauly et al., 2013).

Conseguentemente, ci si aspetta un incremento del numero di "giorni caldi" (con temperature superiori ai 30°C) (Gauly et al., 2013). Le evidenze scientifiche indicano un aumento consistente e costante della frequenza dei giorni in cui le bovine da latte sono soggette a stress da caldo negli ultimi decenni (Gauly et al., 2013). Le conseguenze di tali cambiamenti si ripercuotono su tutta la filiera produttiva del latte, manifestandosi sia attraverso effetti diretti sullo stress termico, sul benessere, sulla salute e sulle performance riproduttive e produttive degli animali, sia attraverso effetti indiretti (VanderZaag et al., 2023). Tra questi ultimi, si distinguono l'alterazione della disponibilità e della qualità dei foraggi a causa della scarsità d'acqua e i cambiamenti nell'epidemiologia di parassiti e patogeni legati alle nuove condizioni ambientali (Gauly et al., 2013).

Lo stress termico, dunque, non è un concetto astratto, ma viene misurato oggettivamente tramite l'indice THI (Temperature-Humidity Index). Fino a poco tempo fa, la soglia critica di allarme per le vacche da latte era fissata a 68 e, ancor prima, negli anni '90, a 72 (Yan et al., 2021). Tuttavia, la più recente letteratura scientifica ha dimostrato che le bovine moderne ad alta produzione risultano molto più sensibili rispetto al passato. In climi temperati, infatti, il calo della produzione quantitativa di latte inizia già a un THI di 60. Ancora più allarmante è l'evidenza che i parametri qualitativi

del latte (grasso e proteine) iniziano a subire danni a soglie di THI molto basse, comprese tra 50 e 62 (Vanderzaag et al., 2023).

Il problema, d'altronde, non riguarda esclusivamente il picco di caldo pomeridiano, ma anche l'accumulo continuo di ore calde. All'interno della comunità scientifica si sta affermando un nuovo indicatore, quello dei "Cooling THI-Days", il quale dimostra come l'accumulo di calore orario senza un adeguato recupero termico notturno aggravi pesantemente le perdite produttive (Mbuthia et al., 2022). A questo scenario si aggiunge un'ulteriore aggravante strutturale: i valori di THI all'interno della stalla tendono a essere sistematicamente più elevati (con incrementi dal 5% al 10%) rispetto a quelli registrati all'esterno (Vanderzaag et al., 2023).

Infine, tra le molteplici problematiche che insorgono in risposta allo stress da caldo, emerge in modo preponderante la criticità economica. Poiché l'animale non riesce più a termoregolarsi autonomamente a fronte di temperature ambientali così critiche, l'allevatore è obbligato a intervenire attivamente sul microclima di stabulazione tramite adeguate strategie di mitigazione del calore e l'installazione di nuove tecnologie (es. ventilazione meccanica, sistemi di raffrescamento ad acqua). Questa necessità si traduce inevitabilmente in un aumento significativo dei costi di gestione e di produzione, gravando in modo sostanziale sui bilanci dell'azienda zootecnica (Vanderzaag et al., 2023).

Nonostante le criticità appena descritte, l'allevamento zootecnico non rappresenta esclusivamente un problema ambientale, ma può costituire a tutti gli effetti una parte essenziale della soluzione, a condizione che sia gestito in maniera adeguata e innovativa. I sistemi produttivi, d'altronde, offrono ampi margini di intervento attraverso l'implementazione di specifiche strategie di mitigazione e adattamento. Interventi significativi nelle pratiche gestionali e produttive, quali l'adozione di nuove tecnologie per la stabulazione, la gestione avanzata dei reflui per la cattura del metano e la riformulazione delle diete per ridurre le fermentazioni enteriche, si rivelano interventi cruciali per mitigare i danni ambientali (Koneswaran & Nierenberg, 2008).

Diversi studi hanno dimostrato che l'integrazione di strategie mirate, come l'uso intelligente degli strumenti nutrizionali e un attento management sanitario, è fondamentale per la gestione e il contrasto delle forti ondate di calore, sempre più

estreme. Recentemente, inoltre, si è riscontrato un effetto positivo in alcune strategie che puntano all'adattamento intrinseco dell'animale, come il miglioramento genetico. In passato, la selezione spinta verso l'alta produzione di latte, tipica della razza Frisona, ha reso le bovine più sensibili al caldo. Infatti, esiste una correlazione genetica negativa tra l'altissima produzione di latte e la tolleranza allo stress termico (VanderZaag et al., 2023). Attualmente, la scienza sta ampliando i propri orizzonti, cercando di selezionare bovine resilienti e termo-tolleranti. Si stanno iniziando a utilizzare indici genetici specifici, come l'HTBV (*Heat Tolerance Breeding Value*), per selezionare animali in grado di sopportare il caldo mantenendo un buono stato di salute, fertilità e sopravvivenza (Misztal et al., 2025). L'implementazione sinergica di queste tre misure (genetica, nutrizione e gestione) non solo permette di mitigare le perdite, ma anche di trasformare questa crisi climatica in una sfida gestibile per le aziende zootecniche (Gauly et al., 2013; Gauly & Ammer, 2020).

1.2 Il contesto climatico in Emilia-Romagna

La Pianura Padana e, nello specifico, l'Emilia-Romagna, rappresentano un "hotspot" climatico, ovvero un'area particolarmente vulnerabile al riscaldamento globale. L'Atlante Climatico Regionale certifica un aumento significativo delle temperature medie, con conseguente aumento della frequenza delle ondate di calore estive (ARPAE, sd). Seguendo il concetto del THI (Temperature-Humidity Index), l'Emilia-Romagna presenta un'elevata umidità relativa che, combinata alle alte temperature, fa schizzare il THI ben oltre la soglia di sicurezza per le bovine. Le previsioni per il bacino del Mediterraneo indicano che, nei prossimi decenni, i valori estivi del THI subiranno ulteriori incrementi drastici, con conseguenti problematiche per la zootecnia e non solo (Segnalini et al., 2013).

Per comprendere meglio la reale portata del problema sul territorio locale può essere utile applicare l'equazione standard del THI ai dati climatici tipici della provincia di Parma.

La formula standard del THI (National Research Council – NRC, 1971; citato in Gantner et al., 2011) è la seguente:

$$THI = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times UR) \times (1.8 \times T - 26)]$$

T sta per temperatura dell'aria (espressa in °C), mentre UR per umidità relativa (espressa in percentuale).

Ipotizzando una classica giornata estiva in provincia di Parma, durante i mesi di luglio o agosto, sostituiamo alla formula teorica dei valori più realistici e tipici del nostro territorio: una temperatura di 32 °C e un'umidità relativa del 60%.

$$THI = (1.8 \times 32 + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times 60) \times (1.8 \times 32 - 26)]$$

L'applicazione della formula restituisce un valore THI pari a 82.6. Contestualizzato, tale dato rappresenta non solo un semplice valore indicativo, ma anche una condizione di stress termico piuttosto severa, superando di oltre 14 punti la soglia di sicurezza fissata a 68 per le vacche moderne (Yan et al., 2021). Ciò contribuisce a spiegare le significative difficoltà gestionali che gli allevatori della zona devono affrontare durante i mesi estivi.

1.3 Fisiologia della termoregolazione

I bovini sono animali omeotermi, ovvero dotati della fondamentale capacità fisiologica di mantenere la propria temperatura corporea interna entro un intervallo relativamente costante, generalmente compreso tra 38.0 °C e 39.3 °C, in modo del tutto indipendente dalle fluttuazioni termiche dell'ambiente circostante (Santos et al., 2021). La stabilità termica è garantita da un delicato e continuo equilibrio tra la produzione di calore endogeno, definita termogenesi, e la dispersione del calore verso l'esterno, nota come termodispersione. Nelle moderne bovine da latte ad alta produzione, la termogenesi risulta essere particolarmente elevata: ciò è dovuto all'ingente calore generato dai fisiologici processi di fermentazione che avvengono nel rumine e all'intenso metabolismo basale e tissutale richiesto per sostenere la sintesi e la secrezione del latte (Polsky & von Keyserlingk, 2017).

Il benessere termico dell'animale è definito come la capacità di mantenere la propria temperatura corporea basale senza dover ricorrere a dispendiosi meccanismi fisiologici compensatori o a repentine alterazioni del comportamento. Questo intervallo

di temperature è noto come "zona di termoneutralità". Sebbene i limiti esatti possano variare in base alla razza e al livello produttivo, per la bovina da latte adulta tale zona è convenzionalmente compresa tra una Temperatura Critica Inferiore (LCT, *Lower Critical Temperature*) di circa 5 °C e una Temperatura Critica Superiore (UCT, *Upper Critical Temperature*) stimata intorno ai 20-25 °C (Giannone et al., 2023). Quando l'ambiente supera il limite superiore di tale zona (UCT), l'animale entra tecnicamente in una condizione di stress termico e si trova costretto ad attivare dei meccanismi attivi per dissipare l'eccesso di calore accumulato (Santos et al., 2021).

Per far fronte all'aumento del carico termico, l'organismo bovino sfrutta due principali vie di termodispersione. La prima categoria è rappresentata dalla dispersione sensibile, o non evaporativa, che include processi fisici diretti quali la conduzione (il contatto con superfici più fresche), la convezione (agevolata dal movimento dell'aria attorno al corpo) e l'irraggiamento (lo scambio di radiazioni elettromagnetiche con l'ambiente). L'efficienza di tali scambi termici dipende in modo stringente dal gradiente termico esistente tra la superficie corporea dell'animale e l'ambiente circostante. Tuttavia, con l'aumentare della temperatura ambientale e il suo avvicinamento a quella corporea, si osserva un assottigliamento del gradiente e una marcata riduzione dell'efficacia dei meccanismi di dispersione sensibile. Di conseguenza, la bovina deve fare affidamento in maniera quasi esclusiva sulla seconda via, ovvero la dispersione latente o evaporativa. Tale meccanismo si realizza principalmente mediante la sudorazione cutanea e la cosiddetta polipnea termica, ovvero l'aumento della frequenza respiratoria (ansimazione) che promuove la massiccia evaporazione dell'acqua direttamente dalle mucose delle vie aeree superiori. A livello sistemico, per facilitare tali processi di raffreddamento, l'animale innesca risposte immediate, tra cui una marcata vasodilatazione periferica, che aumenta il flusso sanguigno verso la pelle allo scopo di trasferire il calore dal nucleo corporeo interno verso l'esterno (Polsky & von Keyserlingk, 2017).

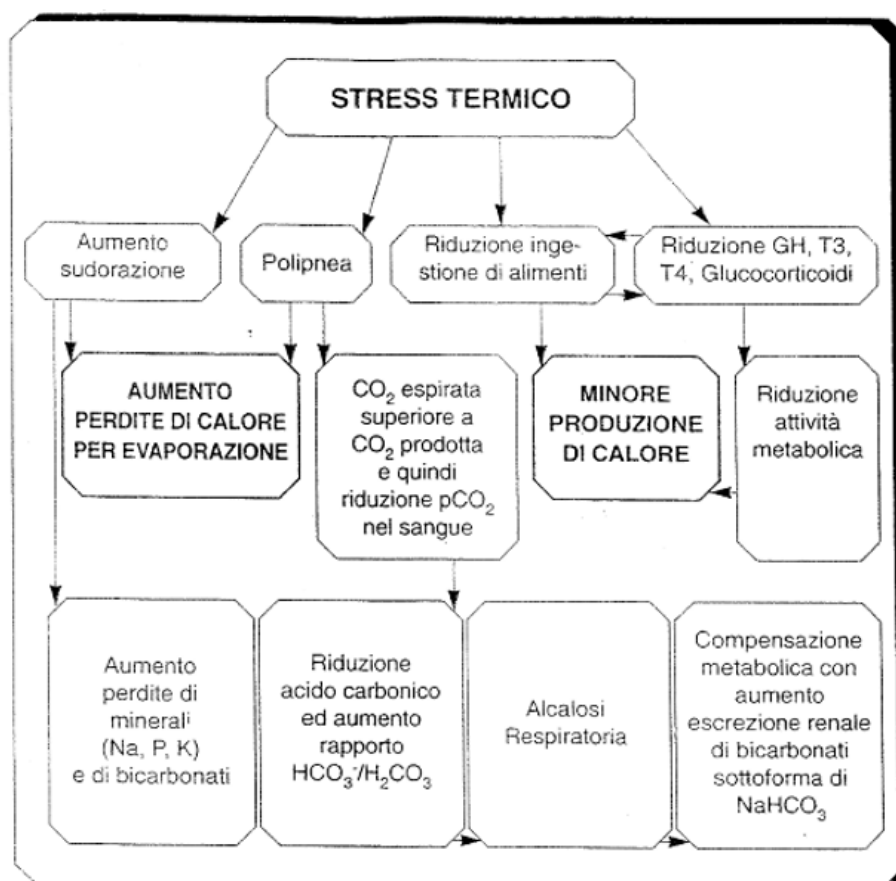


Figura 1: Cascata degli eventi fisiologici e metabolici indotti dallo stress termico.

(Fonte: Adattamento da letteratura tecnica di settore).

Nonostante l'importanza cruciale della dispersione latente, la sua reale efficacia risulta fortemente limitata e condizionata dal livello di umidità presente nell'aria. Un'elevata umidità relativa, infatti, satura l'ambiente e ostacola i fisiologici processi di evaporazione del sudore e dell'acqua respiratoria, finendo per aggravare sensibilmente lo stato di stress dell'animale. A causa della complessa interazione tra la temperatura dell'aria e l'umidità, la valutazione dello stress termico in ambito zootecnico non può basarsi esclusivamente sul dato della temperatura ambientale. Il parametro bioclimatico di elezione, universalmente riconosciuto dalla comunità scientifica, è il Temperature-Humidity Index (THI). Tale indice combina matematicamente la temperatura a bulbo secco e l'umidità relativa in un unico valore numerico, permettendo di stimare in modo decisamente più accurato il carico termico effettivo percepito dall'animale (Gantner et al., 2011).

Come introdotto in precedenza, quando le condizioni ambientali oltrepassano la zona di termoneutralità spingendo il THI oltre le soglie critiche di tolleranza (fissate a 68, o addirittura a 60 per le moderne bovine ad altissima produzione), i meccanismi fisiologici di termoregolazione non risultano più sufficienti a mantenere l'omeostasi (Polsky & von Keyserlingk, 2017; Yan et al., 2021). La temperatura corporea tende conseguentemente a salire, portando la vacca incontro a uno stato di ipertermia clinica e attivando risposte di adattamento secondarie e di emergenza. Tra queste, la più significativa e immediata è la drastica riduzione dell'ingestione di sostanza secca (DMI – *Dry Matter Intake*), un estremo tentativo metabolico e comportamentale volto a limitare a monte la produzione di calore endogeno (Tao et al., 2020). Tale cascata di eventi fisiologici rappresenta il preludio diretto al severo calo delle performance produttive e alle significative alterazioni della qualità del latte che si registrano nei periodi caldi (Chen et al., 2024).

1.4 L'impatto sulla lattazione

Nel momento in cui una bovina raggiunge uno stato di ipertermia, la reazione comportamentale e metabolica principale e più immediata che si osserva è una drastica riduzione dell'ingestione. Contraendo l'assunzione di sostanza secca (DMI – *Dry Matter Intake*), l'animale cerca attivamente di limitare il calore endogeno generato dalle fisiologiche fermentazioni ruminali (Tao et al., 2020). Questa strategia di adattamento innesca tuttavia un vero e proprio cortocircuito metabolico. Da un lato, infatti, la bovina introduce una quantità nettamente inferiore di nutrienti; dall'altro, consuma un'elevata quota di energia nel disperato tentativo di raffreddarsi, ad esempio attraverso l'aumento del ritmo respiratorio e della sudorazione. Tale squilibrio spinge rapidamente l'animale in una severa condizione di Bilancio Energetico Negativo (NEB), in cui le sole riserve corporee non risultano più sufficienti a sostenere gli elevati ritmi produttivi (Polsky & von Keyserlingk, 2017).

A causa di questo marcato deficit energetico e della redistribuzione del flusso ematico, che viene deviato dalla ghiandola mammaria verso i tessuti periferici per massimizzare la termodispersione cutanea, si registra un drastico e immediato crollo dei volumi di

latte prodotti giornalmente (Polsky & von Keyserlingk, 2017). Tuttavia, lo stress da caldo non penalizza esclusivamente le rese quantitative, ma altera anche pesantemente la composizione chimica del latte. Si assiste, infatti, a una significativa diminuzione delle percentuali di grasso e, soprattutto, della fondamentale frazione proteica, ovvero le caseine (Chen et al., 2024; Sterup Moore et al., 2023). Questo grave peggioramento della qualità del latte rappresenta una criticità enorme dal punto di vista economico e tecnologico per le stalle inserite nel circuito della DOP Parmigiano Reggiano, in quanto compromette direttamente le rese casearie, i tempi di affioramento e l'attitudine alla coagulazione del latte in caldaia (Accademia dei Georgofili, 2021).

1.5 L'importanza dell'allevamento bovino nel mondo e la sua sostenibilità

Ad oggi la popolazione mondiale si trova in rapido e continuo accrescimento; si stima che, entro il 2050, la popolazione arriverà a circa 9-10 miliardi di individui (Henchion et al., 2021). Questo enorme aumento demografico, unito a problemi ambientali come i cambiamenti climatici, porterà a un incremento senza precedenti della domanda globale di cibo (Molotoks et al., 2021). Per riuscire a garantirla, risulterà fondamentale non solo produrre più cibo, ma fornire più fonti proteiche dall'elevato valore biologico. I prodotti di origine animale rispondono perfettamente a questa esigenza globale. Questi posseggono, infatti, un profilo amminoacidico completo e un indice DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) eccellente, il che garantisce una digeribilità e un utilizzo proteico insuperabili (Zeng et al., 2022). Il latte, in particolar modo, è una matrice complessa in cui tutti i nutrienti lavorano in sinergia, offrendo una biodisponibilità altissima di minerali quali calcio, iodio e zinco, e di vitamine essenziali come la B12, di cui il corpo umano necessita e che è in grado di assimilare facilmente (Walther et al., 2022).

Spesso l'allevamento bovino viene criticato ipotizzando una competizione diretta con l'alimentazione umana per l'uso dei suoli e dei cereali, fenomeno noto come feed-food competition (Ineichen et al., 2023). Ciononostante, questa visione non considera una

prerogativa biologica imprescindibile. Grazie all'ecosistema microbico ruminale, la bovina è un animale in grado di digerire la componente fibrosa, effettuando così un processo di upcycling (riciclo) (de Ondarza & Tricarico, 2021). L'animale, quindi, ricopre il ruolo di una bioraffineria naturale: è capace di convertire enormi quantità di biomasse fibrose, foraggi e sottoprodotti agro-industriali (ovvero tutte quelle risorse biologicamente non commestibili per la specie umana), trasformandole in proteine nobili ad altissimo valore biologico e nutrizionale (de Ondarza & Tricarico, 2021). Il ruminante, quindi, valorizza scarti e terreni marginali, contribuendo attivamente alla produzione di cibo per l'uomo.

Tenuto conto del duplice ruolo che ricopre il bovino – fornitore di nutrienti essenziali e attore chiave di un'economia circolare – e del quadro mondiale che ci attende nei prossimi anni, risulta evidente come la tutela dell'allevamento bovino sia una priorità per il nostro futuro. In un pianeta in costante surriscaldamento, garantire l'efficienza e il benessere di questi animali proteggendoli dallo stress termico appare un tassello cruciale per assicurare la sicurezza alimentare globale. È all'interno di questa sfida – stretti tra l'incudine dei cambiamenti climatici e il martello della crescente necessità nutrizionale dell'umanità – che si colloca, limpidamente, l'urgenza di implementare nuove strategie di adattamento, esplorando a fondo i meccanismi cellulari della vacca e le più innovative difese nutrizionali.

1.6 Gli allevamenti da Parmigiano Reggiano

Il comprensorio del Parmigiano Reggiano DOP vanta una peculiarità unica: circa il 20% della sua produzione ha luogo in zone collinari o montane, in particolare nell'Appennino emiliano. Queste aziende rivestono un ruolo che va ben oltre la produzione del latte, fungendo da fondamentale presidio umano e ambientale e assumendo un carattere socioculturale degno di nota. Con l'aggravarsi dello stress termico, come previsto, queste stalle storiche potrebbero chiudere, causando un progressivo e drastico spopolamento delle cosiddette aree interne. L'abbandono di queste zone comporterebbe un danno incalcolabile, con conseguenze quali il degrado

del paesaggio, la perdita di un prezioso tassello socioculturale e un aumento del rischio di dissesto idrogeologico montano (Accademia dei Georgofili, 2021).

Il settore zootecnico italiano, tuttavia, non è rimasto fermo. Negli ultimi anni ha compiuto grandi passi avanti in termini di sostenibilità ambientale. Grazie al miglioramento genetico, all'ottimizzazione delle razioni alimentari e a una gestione più efficace delle deiezioni, l'impatto ambientale e le emissioni di gas serra (GHG) per chilo di latte prodotto si sono ridotti in modo significativo.

Per difendere queste importanti stalle, soprattutto quelle in alta montagna, dalle nuove sfide climatiche, come lo stress da caldo, la soluzione principale adottata è la zootecnia di precisione (Precision Livestock Farming, PLF). Sensori per il monitoraggio del clima, sistemi di ventilazione intelligenti e collari per il monitoraggio del benessere animale sono solo alcuni dei tanti sistemi adottabili che permetterebbero di intervenire tempestivamente anche nelle strutture tradizionali (Accademia dei Georgofili, 2021).

Tuttavia, l'approccio puramente tecnologico può non rivelarsi sufficiente a contrastare le ondate di calore più estreme, motivo per cui la ricerca scientifica sta studiando anche strategie di adattamento intrinseco, in particolare attraverso la nutrizione. L'integrazione della dieta con additivi specifici rappresenta oggi la nuova frontiera per supportare il metabolismo della bovina e difenderla dallo stress cellulare causato dal caldo.

CAPITOLO 2: Lo stress ossidativo e i suoi meccanismi biologici

2.1 Lo stress ossidativo: definizione e correlazione con lo stress da caldo

Il concetto di stress ossidativo descrive una complessa condizione fisiopatologica caratterizzata dalla rottura del delicato equilibrio biochimico tra la produzione di molecole pro-ossidanti e la capacità dell'organismo di neutralizzarle mediante il proprio sistema di difese antiossidanti (Ayemele et al., 2021). Questa discrepanza si verifica quando la generazione di radicali liberi e di specie reattive, in particolare le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e le specie reattive dell'azoto (RNS), supera l'efficienza dei meccanismi di difesa cellulare deputati alla loro disattivazione (Ponnampalam et al., 2022).

In condizioni di termoneutralità e di salute fisiologica, le specie reattive non rappresentano un'anomalia intrinseca, ma un normale sottoprodotto del metabolismo aerobico cellulare. I ROS vengono principalmente generati all'interno dei mitocondri durante i processi di fosforilazione ossidativa per la produzione di energia (ATP) e, a concentrazioni basali, svolgono funzioni biologiche essenziali (Ayemele et al., 2021). Queste molecole fungono infatti da fondamentali messaggeri secondari per la trasduzione del segnale cellulare, partecipano alla regolazione dell'espressione genica, supportano le difese immunitarie attraverso la fagocitosi batterica e mediano la corretta differenziazione tissutale (Coleman et al., 2020; Ponnampalam et al., 2022). Per impedire l'accumulo indiscriminato di questi agenti reattivi, l'organismo animale si avvale di una complessa e sinergica rete di difese antiossidanti che include sia componenti endogeni di natura enzimatica, come la superossido dismutasi, la catalasi e la glutazione perossidasi, sia componenti esogeni di natura non enzimatica derivanti esclusivamente dall'apporto nutrizionale e dietetico (Ayemele et al., 2021; Guo et al., 2021).

Lo stato patologico di stress ossidativo si instaura quando questo bilancio pende irrimediabilmente a favore dei pro-ossidanti, a causa di una sovrapproduzione di ROS o di un contemporaneo impoverimento delle riserve antiossidanti cellulari (Guo et al.,

2021). Quando le specie reattive sfuggono al controllo del sistema di difesa a causa della presenza di uno o più elettroni spaiati nei loro orbitali esterni, reagiscono in modo estremamente aggressivo con le macromolecole biologiche circostanti nel tentativo di stabilizzarsi (Ayemele et al., 2021). Tale iperreattività innesca una reazione a catena distruttiva che provoca un danno cellulare profondo, che si manifesta principalmente attraverso tre vie: la perossidazione dei lipidi polinsaturi che compongono le membrane cellulari, l'ossidazione strutturale e funzionale delle proteine e, infine, le lesioni dirette al DNA (Ponnampalam et al., 2022).

Nel contesto specifico dell'allevamento zootecnico, la definizione di stress ossidativo assume una rilevanza critica per le moderne bovine da latte ad alta produzione genetica. Questi animali, a causa dell'elevata intensità del metabolismo epatico e mammario necessaria per sostenere la produzione di grandi quantità di latte, presentano un consumo di ossigeno massiccio e, di conseguenza, una produzione endogena di ROS eccezionalmente elevata (Coleman et al., 2020; Giannone et al., 2023). Questa prerogativa biologica pone la vacca in lattazione in una condizione cronica di precario equilibrio ossidativo, rendendola intrinsecamente suscettibile e vulnerabile a ulteriori fattori di stress ambientale, patologico o nutrizionale, che possono innescare l'insorgenza di patologie a livello sistemico (Ayemele et al., 2021).

2.2 Specie reattive all'ossigeno – ROS

In primo luogo, è necessario definire il concetto scientifico di "specie reattiva all'ossigeno", spesso indicata con l'acronimo inglese ROS. Si tratta di molecole altamente instabili che si formano in modo naturale come sottoprodotto del normale metabolismo dell'ossigeno, in particolare durante la respirazione cellulare che avviene all'interno dei mitocondri. A causa della loro conformazione elettronica e del fatto che spesso possiedono un elettrone spaiato, sono chimicamente "aggressive" poiché cercano costantemente di sottrarre elettroni alle molecole vicine nel tentativo di stabilizzarsi (Tufarelli et al., 2023).

Entrando più nel dettaglio biochimico, si distinguono due famiglie principali di ROS. Da una parte si trovano i radicali liberi veri e propri, tra cui spiccano l'anione superossido (O_2^-) e il radicale ossidrilico ($\cdot OH$); quest'ultimo risulta in assoluto il più reattivo e

dannoso. Dall'altra parte, invece, si collocano le specie non radicaliche, come il perossido di idrogeno (H_2O_2). Pur non essendo un radicale libero di per sé, il perossido di idrogeno presenta la problematica capacità di attraversare le membrane cellulari e di trasformarsi successivamente in un radicale ossidrilico (Lalot et al., 2020).

È tuttavia importante sottolineare che i ROS non sono intrinsecamente dannosi. In condizioni basali e a basse concentrazioni, infatti, svolgono ruoli fisiologici essenziali: fungono da "messaggeri" cellulari e vengono impiegati dal sistema immunitario come dei mezzi per neutralizzare i batteri patogeni. Il problema, che sfocia nello stress ossidativo, si verifica esclusivamente quando la loro produzione sfugge al controllo fisiologico, come accade nel caso di uno scenario di stress da caldo o di un'alta produzione di latte, andando così a sovrastare le naturali difese antiossidanti della bovina (Zachut et al., 2020).

Se si verifica questo pericoloso accumulo di ROS all'interno dell'organismo, le conseguenze a livello citologico sono gravi. Il bersaglio principale di queste molecole instabili sono i lipidi polinsaturi che compongono le membrane cellulari; l'attacco dei ROS innesca un processo distruttivo a catena noto come perossidazione lipidica. In ambito zootecnico e veterinario, per misurare l'entità di tale danno cellulare nel sangue o nel latte delle bovine, si utilizza un biomarcatore specifico chiamato Malondialdeide (MDA), utile quindi per individuare un caso di stress ossidativo nel bovino. Alti livelli di MDA indicano che i ROS stanno colpendo le membrane cellulari, compromettendo la salute dell'animale e la composizione del latte (Zheng et al., 2021).

2.3 Conseguenze dello stress ossidativo in lattazione

In caso di stress ossidativo in una bovina in lattazione, il primo organo a subire danni è proprio la ghiandola mammaria. I radicali liberi attaccano le cellule epiteliali mammarie che svolgono un ruolo fondamentale nella sintesi del latte. Questo attacco compromette e riduce drasticamente il trasferimento degli aminoacidi dal sangue alla mammella, essenziali per la creazione delle proteine del latte, come le caseine, innescando successivamente l'apoptosi, ovvero la morte cellulare. Tale compromissione della ghiandola mammaria e delle cellule epiteliali si traduce in un crollo verticale sia della quantità che della qualità del prodotto (Zhou et al., 2022).

Il secondo grave danno causato dallo stress ossidativo colpisce il sistema immunitario. Si instaurerà un meccanismo di "esaurimento" dovuto al forte stress da caldo. L'eccesso di ROS consumerà quasi tutte le riserve antiossidanti della bovina, come la vitamina E. I globuli bianchi, i leucociti, rimasti senza difese, subiranno a loro volta i danni dei radicali liberi, perdendo la loro capacità fagocitante nei confronti dei batteri. Questa grave condizione di immunosoppressione crea un vero e proprio buco nelle difese dell'animale, rendendo la mammella un facile bersaglio per i patogeni ambientali e facendo aumentare vertiginosamente i casi di mastite clinica e subclinica (Chauhan et al., 2021; Lalotitis et al., 2020).

La tossicità dei ROS, tuttavia, non si limita esclusivamente alla mammella, ma altera in modo letale anche il delicato microambiente ovarico. I radicali liberi colpiscono in particolare le cellule della granulosa, cellule nutrici che risultano fondamentali per lo sviluppo del follicolo e per la produzione di ormoni riproduttivi. L'eccesso di ROS inibisce la proliferazione di queste cellule, ne induce l'apoptosi e blocca, di fatto, la normale ciclicità ovarica (Khan et al., 2021).

Il danno si estende poi direttamente all'ovocita, compromettendone il citoscheletro e il DNA. Anche qualora la fecondazione dovesse avere successo, un ambiente uterino infiammato e soggetto a stress ossidativo risulterebbe estremamente ostile, bloccando lo sviluppo embrionale nelle sue primissime fasi di divisione cellulare e causando il fenomeno della mortalità embrionale precoce. Dal punto di vista zootecnico, tutto ciò si traduce in vacche che non mostrano i calori, in un crollo drastico dei tassi di concepimento e di fertilità e nella necessità di ripetere l'inseminazione artificiale molteplici volte, con un conseguente pesantissimo danno economico per l'allevatore (Sammad et al., 2020).

CAPITOLO 3: Il sistema antiossidante e le strategie nutrizionali

3.1 Definizione e meccanismi d'azione degli antiossidanti

Innanzitutto, risulta imperativo definire il concetto di antiossidante dal punto di vista biochimico: si tratta di una molecola o di un complesso molecolare in grado di ritardare, prevenire o rimuovere i danni ossidativi alle strutture cellulari. Il loro meccanismo d'azione primario è noto in letteratura come "scavenging" (letteralmente, azione "spazzino"). Gli antiossidanti agiscono da donatori cedendo volontariamente un proprio elettrone a un radicale libero instabile (ROS), causandone l'immediata neutralizzazione. La peculiarità biochimica degli antiossidanti risiede nel fatto che, pur perdendo un elettrone, la loro struttura molecolare rimane stabile, impedendo l'innesco o la propagazione di ulteriori reazioni a catena dannose, come la perossidazione lipidica, che possono distruggere le membrane cellulari e il DNA (Abeyrathne et al., 2022; Ponnampalam et al., 2022).

Di fronte alla minaccia costante dei radicali liberi, l'organismo della bovina non è indifeso. È dotato, infatti, di un sistema antiossidante estremamente complesso e stratificato, che può essere suddiviso in due grandi categorie cooperanti: le difese endogene e le difese esogene. Le difese endogene sono di natura enzimatica e vengono sintetizzate direttamente dall'animale, costituendo la prima barriera protettiva. Le difese esogene, invece, sono molecole di natura non enzimatica che devono necessariamente essere introdotte nell'organismo attraverso la dieta, come le vitamine, gli oligoelementi e i polifenoli vegetali. Questi due sistemi non lavorano in modo isolato, ma si supportano a vicenda. Molto spesso, infatti, gli antiossidanti introdotti con la dieta servono a rigenerare o a far funzionare correttamente gli enzimi endogeni (Ayemele et al., 2021).

Entrando nel dettaglio del sistema enzimatico endogeno, esso rappresenta la prima e più grande linea di difesa cellulare. I tre enzimi principali che lo compongono sono la Superossido Dismutasi (SOD), la Catalasi (CAT) e la Glutathione Perossidasi (GPx). Questi enzimi non agiscono in modo casuale, ma lavorano in sinergia attraverso una vera e propria cascata biochimica sequenziale. La SOD costituisce la prima linea di

difesa: il suo compito è intercettare il radicale più reattivo e problematico, l'anione superossido (O_2^-), convertendolo in perossido di idrogeno (H_2O_2). Sebbene meno instabile, il perossido di idrogeno rimane tossico per la cellula. A questo punto intervengono la CAT e la GPx, le quali catalizzano l'ulteriore riduzione del perossido di idrogeno disinnescandolo in molecole completamente innocue e fisiologiche, ovvero acqua (H_2O) e ossigeno (O_2) (Pasciu et al., 2023; Balkan et al., 2025).

Per comprendere il funzionamento di questa complessa struttura difensiva, è fondamentale capire il meccanismo genetico che consente alla cellula di percepire il pericolo e di avviare la sintesi di questi enzimi salvavita. Questo ruolo di "sensore" e interruttore molecolare è affidato alla via di segnalazione Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2). In condizioni normali, la proteina Nrf2 rimane inattiva nel citoplasma cellulare. Tuttavia, in presenza di stress ossidativo, i ROS causano il distacco di Nrf2 dal suo inibitore. Una volta libera, la proteina si sposta rapidamente nel nucleo della cellula e si lega a specifiche sequenze di DNA note come elementi di risposta antiossidante (ARE). Questa traslocazione attiva l'espressione di massa dei geni responsabili della produzione di enzimi antiossidanti, come la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutazione perossidasi (GPx), orchestrando una risposta adattativa massiccia finalizzata a ristabilire la corretta omeostasi nell'organismo della bovina (Soldado et al., 2021).

3.2 Strategie antiossidanti specifiche per la bovina da latte

I due pilastri storici della difesa antiossidante nei bovini sono la vitamina E e il selenio. Questi non agiscono separatamente, ma in sinergia. La vitamina E è liposolubile, quindi si andrà a posizionare direttamente sulle membrane cellulari, bloccando i radicali liberi prima che distruggano i lipidi e fungendo come da scudo. Il selenio, invece, lavora dall'interno, essendo il cofattore minerale essenziale per far funzionare l'enzima Glutazione Perossidasi (GPx) (Xiao et al., 2021). Insieme, la vitamina E e il selenio, migliorano lo stato immunitario, riducono l'incidenza di patologie post-parto e aumentano il successo riproduttivo della bovina (Ding et al., 2025; Chen et al., 2023).

Nonostante la vitamina E risulti fondamentale, le vacche ad alta produzione vanno fisiologicamente incontro a un drastico calo di questa vitamina (ipovitaminosi E)

durante il periodo di transizione, rendendole più vulnerabili allo stress, incluso quello da caldo (Haga et al., 2021). Le ricerche, ad oggi, non si fermano più all'alfa-tocoferolo, bensì si stanno studiando nuove forme, analoghi della vitamina E come i tocotrienoli, che sembrano avere capacità antiossidanti ancora più potenti e rapide nel modulare l'infiammazione (Kuhn, 2023).

Tra i principali antiossidanti troviamo altri minerali chiave quali: zinco, rame e manganese. Questi non neutralizzano i radicali liberi da soli, ma sono coloro che permettono il funzionamento della superossido dismutasi (SOD) (Wang et al., 2026).

La letteratura scientifica ha recentemente ottenuto degli esiti che dimostrano come l'uso di forme altamente biodisponibili, tra cui la zinco-metionina rumino-protetta, possa rivelarsi una strategia vincente proprio per alterare positivamente lo stress ossidativo e infiammatorio delle bovine sottoposte a lunghi periodi di stress da caldo (Danesh Mesgaran et al., 2022). Sempre in ottica di mitigazione dello stress termico, recenti studi hanno evidenziato che anche l'integrazione dietetica di vitamina D3 e calcio è in grado di alleviare parzialmente i sintomi dello stress da caldo e modulare l'infiammazione, agendo in maniera del tutto indipendente rispetto alle concentrazioni di vitamina E e selenio (Ruiz-González et al., 2023).

Oltre a vitamine e minerali, la nutrizione zootecnica sta esplorando le capacità degli estratti vegetali naturali, come i composti a base di tannini. Questi metaboliti secondari delle piante si stanno mostrando essere dei potenti antiossidanti, capaci di proteggere persino le cellule endoteliali dai danni dei ROS (Ciampi et al., 2020).

3.3 Fonti alimentari e biodisponibilità

La somministrazione di antiossidanti nella dieta dei bovini presenta una sfida di natura fisiologica e anatomica: il rumine. Prima di arrivare all'intestino, dove avviene l'assorbimento, gli alimenti subiscono la fermentazione da parte del microbiota ruminale. Molte molecole antiossidanti, se somministrate libere, come amminoacidi o vitamine, vengono degradate o alterate dai batteri, perdendo gran parte della loro efficacia e riducendo notevolmente la loro reale biodisponibilità (Hao et al., 2025).

I classici minerali inorganici, come ossidi o solfati, presentano infatti il grande limite di una ridotta biodisponibilità: una volta giunti nel rumine tendono a legarsi tra loro, precipitando in complessi insolubili e rendendo di fatto vano l'apporto nutrizionale. Viceversa, l'utilizzo di fonti organiche come i minerali chelati ad amminoacidi o peptidi, ne predispone un assorbimento intestinale nettamente superiore e un maggiore accumulo nei tessuti, andando così a potenziare le difese antiossidanti dell'animale (Grešáková et al., 2021). La maggiore efficacia che ritroviamo nelle fonti organiche è dovuta proprio al loro particolare meccanismo di assorbimento. Mentre i sali inorganici hanno la tendenza a dissociarsi nell'ambiente ruminale e intestinale, rischiando di reagire con gli antagonisti dietetici e di creare, così, complessi inassorbibili, i minerali chelati, piuttosto, utilizzano i trasportatori dei peptidi e degli amminoacidi a livello dell'epitelio intestinale. Questo percorso alternativo permette al minerale di aggirare la competizione ionica con altri metalli, incrementando in modo significativo la quota biodisponibile che riesce a raggiungere il torrente ematico (Grešáková et al., 2021).

Ad oggi, per cercare di aggirare questo problema si utilizzano tecniche di nutrizione avanzate come la microincapsulazione, ad esempio andando ad utilizzare matrici lipidiche come l'olio di palma idrogenato. Questa protezione che forniamo permette ai nutrienti essenziali come la vitamina E, il glutathione o gli oli ricchi di omega-3, di bypassare le fermentazioni ruminali rimanendo intatti, e di essere così liberati e assorbiti solo a livello del tratto intestinale inferiore, massimizzandone la biodisponibilità (Kim et al., 2020; Hao et al., 2025). Un esempio rappresentativo che esprime l'importanza di queste tecnologie di protezione è raffigurato dal glutathione, un potente antiossidante intracellulare. Questo, quando viene somministrato in forma libera e non protetta, viene rapidamente degradato e catabolizzato dai microrganismi ruminali nei singoli amminoacidi che lo costituiscono, annullando, sostanzialmente, il suo ruolo bioattivo. Le nuove formulazioni rumino-protette, viceversa, permettono a questa molecola di ottenere la funzione bypass, oltrepassando così le fermentazioni ruminali ed essendo infine assorbita, intatta, a livello intestinale. Questo contribuisce a ridurre notevolmente lo stress ossidativo, specialmente nel complicato periodo di transizione (Hao et al., 2025).

Emerge quindi l'importanza delle fonti vegetali. In natura si ritrovano dei composti fitochimici estremamente utili, come i flavonoidi o estratti di piante aromatiche, che

agiscono come *scavenger* (spazzini) di radicali liberi (Negasa, 2024). Eppure, affinché questi estratti possano esprimere il loro potenziale antiossidante e antinfiammatorio sistemico nella bovina, è spesso necessario inserirli nelle matrici rumino-protette di cui abbiamo parlato (Kim et al., 2020). La tecnologia della microincapsulazione ha, in aggiunta, consentito di formulare delle miscele sinergiche. Studi recenti hanno dimostrato la grande efficacia di somministrare complessi incapsulati contenenti oli ricchi di acidi grassi polinsaturi omega-3 (come l'olio di semi di lino) associati a vitamina E ed estratti di rosmarino. In queste formulazioni avanzate, la matrice lipidica protegge i delicati acidi grassi dalla bioidrogenazione ruminale, mentre i fitoestratti e la vitamina E lavorano in sinergia per prevenirne l'ossidazione. Ciò garantisce che l'intero pacchetto nutrizionale e antiossidante arrivi inalterato all'intestino, massimizzando i benefici fisiologici e produttivi per la bovina (Kim et al., 2020).

3.4 Fabbisogni di antiossidanti nella vacca in lattazione

L'evoluzione della nutrizione clinica nel bovino da latte ha registrato un cambiamento concettuale con la pubblicazione delle recenti linee guida redatte dal National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM, 2021, Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition). Rispetto alle precedenti indicazioni del NRC (2001), l'approccio formulativo odierno non è più orientato alla mera prevenzione delle patologie carenziali cliniche. Al contrario, la definizione dei fabbisogni di vitamine e oligoelementi è calibrata per massimizzare la risposta immunitaria e preservare l'omeostasi cellulare, requisiti stringenti per animali ad alta produzione sottoposti a severi stress ambientali, come le ondate di calore estive.

Il sistema di difesa antiossidante esogeno si fonda primariamente sull'azione sinergica della vitamina E (α -tocoferolo) e del selenio. Essendo la vitamina E un composto liposolubile, la sua attività di scavenger si esplica direttamente a livello del doppio strato fosfolipidico delle membrane cellulari, dove interrompe fisicamente la reazione a catena della perossidazione lipidica. La bovina non dispone di vie metaboliche per la sintesi autonoma di tale vitamina, il cui approvvigionamento è pertanto strettamente dipendente dall'ingestione. Il NASEM (2021) suggerisce un approccio dinamico ai fabbisogni: sebbene per una vacca in lattazione in condizioni di termoneutralità le dosi

di mantenimento siano sufficienti, i tassi di deplezione tissutale subiscono un'impennata durante la fase di transizione e nei mesi caldi. In questi scenari critici, le raccomandazioni indicano la necessità di incrementare l'apporto fino a 1000-2000 UI/capo/giorno per compensare l'elevato carico ossidativo.

Parallelamente, il selenio agisce nel comparto acquoso della cellula (citosol) in qualità di cofattore strutturale insostituibile per l'enzima glutathione perossidasi (GSH-Px), il cui compito è neutralizzare i perossidi e l'acqua ossigenata prima che possano innescare danni strutturali. La gestione nutrizionale del selenio è tuttavia vincolata da rigidi limiti normativi sulla tossicità ambientale e animale; il limite legale di inclusione nella razione è globalmente fissato a 0,3 mg/kg di sostanza secca (SS). Per ottimizzare la copertura di tale fabbisogno senza incorrere in violazioni normative, le strategie formulative attuali promuovono l'impiego di fonti organiche (quali la seleniomietionina derivata da lieviti inattivati). Rispetto al selenito di sodio (forma inorganica), il selenio organico garantisce tassi di assorbimento intestinale nettamente superiori e permette la costituzione di riserve muscolari mobilizzabili nei momenti di aumentato fabbisogno.

Oltre a questa prima linea di difesa, il comitato NASEM (2021) ha rivisitato i modelli di stima e i coefficienti di assorbimento (AC) per i microminerali essenziali, tra cui spiccano Zinco (Zn), Rame (Cu) e Manganese (Mn). Le nuove equazioni, ad esempio, hanno modificato il calcolo delle perdite fecali endogene (fissate a 5 mg Zn/kg di sostanza secca ingerita), innalzando di conseguenza i fabbisogni dietetici totali di zinco per una vacca in lattazione a circa 50-60 mg/kg SS, valori sensibilmente superiori rispetto al passato. Pur essendo coinvolti in una moltitudine di vie metaboliche e cheratiniche, il loro ruolo nella gestione dello stress termico è legato all'enzima Superossido Dismutasi (SOD). Nello specifico, zinco e rame operano come cofattori per l'isoforma citosolica (Cu/Zn-SOD), mentre il Manganese è vitale per l'isoforma mitocondriale (Mn-SOD), organulo dove si concentra la maggiore produzione di radicali liberi.

Dal punto di vista matematico e modellistico, l'ottava edizione del NASEM (2021) calcola i fabbisogni dei microminerali abbandonando le vecchie stime empiriche a favore di un rigoroso approccio fattoriale. Il fabbisogno dietetico totale di un oligoelemento viene oggi calcolato sommando le singole richieste nette per le diverse

funzioni fisiologiche, per poi dividere il risultato per il Coefficiente di Assorbimento (AC, *Absorption Coefficient*) specifico di quel minerale, secondo la seguente equazione generale:

$$Fabbisogno\ Dietetico = \frac{\text{Mantenimento} + \text{Lattazione} + \text{Gravidanza} + \text{Accrescimento}}{AC}$$

Dove il fabbisogno di *Mantenimento* è ora calcolato tenendo conto delle stime aggiornate delle perdite fecali endogene, urinarie e tegumentarie (desquamazione e sudorazione, fattore quest'ultimo non trascurabile in condizioni di stress da caldo). È proprio la profonda revisione al ribasso di molti coefficienti di assorbimento (AC) nel nuovo modello matematico ad aver generato l'innalzamento dei livelli di inclusione pratici nella razione.

Al fine di inquadrare quantitativamente le attuali raccomandazioni, la Tabella 11 riporta una sintesi dei fabbisogni e dei livelli di inclusione pratici su base secca per i principali micronutrienti ad azione antiossidante, in accordo con gli aggiornamenti fisiologici del NASEM.

TABELLA 11: Fabbisogni e limiti pratici dei principali micronutrienti antiossidanti nella bovina da latte.

Micronutriente	Ruolo Fisiologico/Antiossidante	Fabbisogno Stimato / Livello di Inclusione Pratico (su Sostanza Secca) *
Vitamina E (α-tocoferolo)	Blocco della perossidazione lipidica a livello delle membrane cellulari.	Lattazione: ~15-20 UI/kg SS Transizione / Stress termico: 1000 - 2000 UI/capo/giorno
Selenio (Se)	Cofattore dell'enzima citosolico Glutathione Perossidasi (GSH-Px).	0,3 mg/kg SS <i>(Limite massimo normativo)</i>
Zinco (Zn)	Cofattore dell'enzima Cu/Zn-Superoossido Dismutasi (citosolica).	50 - 60 mg/kg SS
Manganese (Mn)	Cofattore dell'enzima Mn-Superoossido Dismutasi (mitocondriale).	30 - 40 mg/kg SS
Rame (Cu)	Cofattore dell'enzima Cu/Zn-Superoossido Dismutasi (citosolica).	15 - 20 mg/kg SS

Fonte: NASEM (2021), modificato

*Nota: I valori per i microminerali indicano le concentrazioni dietetiche totali ottimali calcolate per vacche ad alta produzione, tenendo conto dei coefficienti di assorbimento (AC) e delle perdite endogene aggiornate dal comitato NASEM.

Il soddisfacimento rigoroso di questi parametri rappresenta, alla luce delle attuali conoscenze metaboliche, il prerequisito indispensabile su cui innestare l'eventuale integrazione aggiuntiva con fitocomplessi estrattivi, al fine di garantire alla bovina da latte un assetto difensivo completo contro lo stress ossidativo estivo.

CAPITOLO 4: Stato dell'arte: integrazione di antiossidanti in lattazione

A seguito della disamina sui meccanismi biologici e biochimici che governano lo stress ossidativo e il sistema di difesa cellulare, affrontata nel capitolo precedente, la presente sezione si pone l'obiettivo di operare un fondamentale "cambio di scala". Si passerà, infatti, da un'analisi prettamente microscopica e fisiologica a una valutazione macroscopica e di campo. Lo scopo di questo capitolo è indagare l'effettiva applicabilità e i reali benefici delle strategie nutrizionali all'interno della quotidianità aziendale. Attraverso la revisione dei più recenti trial clinici condotti in allevamenti commerciali, verranno analizzati i risvolti pratici dell'integrazione antiossidante, quantificabili e misurabili in termini di performance produttive, incidenza delle patologie di transizione e sostenibilità economica per l'allevatore, mantenendo un focus specifico sulle sfide ambientali imposte dallo stress da caldo.

4.1 Approccio classico: vitamine e oligoelementi

L'approccio classico per sostenere le vacche ad alta produzione si basa sull'integrazione di vitamina E e selenio; tuttavia, ad oggi, la letteratura ha fatto maggior chiarezza, fornendoci dei dati misurabili sui ritorni in stalla. Un recente studio clinico condotto su bovine di razza Frisona (Holstein) in fase di transizione ha permesso di evidenziare come, somministrando un dosaggio giornaliero massiccio nel pre-parto (in particolar modo 3000 UI/giorno di vitamina E associate a 6 mg/giorno di selenio), sia stato notato un tracollo delle patologie uterine. In particolar modo, l'incidenza della ritenzione placentare è diminuita dal 25% al 16,6% e le metriti si sono quasi dimezzate. Parlando da un punto di vista produttivo, queste vacche hanno aumentato la loro produzione di ben 411,5 kg di latte in più sull'intera lattazione, generando un netto profitto economico per l'allevatore al netto del costo di integrazione (Ding et al., 2025).

Spostandoci al tema dei microelementi, i vecchi dosaggi base non sembrano più essere sufficienti per sostenere il metabolismo della Frisona moderna. Recenti studi hanno dimostrato come, innalzando l'integrazione dietetica di zinco organico (zinco-metionina) da 76 mg/kg a circa 97 mg/kg di sostanza secca in vacche Holstein ad alta

produzione, si ottengano ottimi risultati pratici. Si osserva, infatti, un miglioramento della produzione di latte nella fase post-picco, associato a un abbassamento della conta delle cellule somatiche (SCC), il che si traduce in mammelle più sane e in una maggiore persistenza della lattazione (Oconitrillo et al., 2024).

Ulteriori studi hanno dimostrato come anche le razze rustiche più resistenti, come la Modicana, subiscano un profondo squilibrio ossidativo nel plasma sanguigno durante lo stress derivato dal caldo estivo (Alberghina et al., 2024). Il che ci evidenzia l'urgenza di un intervento di aiuto verso la razza Frisona. È stato dimostrato come sostituire i vecchi sali inorganici con dei microelementi organici possa portare a una reale svolta. L'uso di zinco-metionina rumino-protetta, a 40 mg/kg, durante i mesi più caldi ha permesso di ridurre l'infiammazione (Danesh Mesgaran et al., 2022). Un'altra soluzione che è stata testata dando ottimi risultati è stata la sostituzione di rame, zinco e manganese in forma inorganica con le rispettive forme organiche chelate; questo ha portato le bovine ad aumentare la produzione di oltre 3 kg di latte al giorno, passando da 41,3 a 44,6 kg/giorno (Rezvani et al., 2024).

4.2 La nuova frontiera: polifenoli e composti bioattivi vegetali

Spostando l'attenzione sulla piena lattazione, la letteratura più recente sta evidenziando le grandi potenzialità dei composti bioattivi vegetali (PBC), tra cui tannini, flavonoidi e fitoestratti. Quando impiegati direttamente in stalla durante i mesi estivi, questi composti si comportano come un vero e proprio alleato fisiologico: i dati di campo mostrano infatti una riduzione significativa di due parametri critici per l'animale, ovvero la temperatura rettale e la frequenza respiratoria (Guo et al., 2023). Questo risultato non è casuale: a livello cardiovascolare, i polifenoli favoriscono una migliore vasodilatazione periferica, aiutando la bovina a disperdere il calore in eccesso. In aggiunta, agiscono come protettori della mucosa intestinale; un dettaglio fondamentale se consideriamo che, durante le forti ondate di caldo, la barriera intestinale rischia spesso di cedere e diventare permeabile a causa del ridotto afflusso di sangue agli organi interni. Grazie a questo abbassamento interno della temperatura e alla riduzione dello stress cellulare, la bovina in lattazione non riduce severamente l'assunzione di sostanza secca (DMI). Questo consente di sostenere maggiormente la

curva di lattazione e di arginare il classico crollo produttivo che si presenta durante i mesi estivi più caldi (Guo et al., 2021).

Dall'impiego di PBC si riscontrano inoltre degli effetti diretti sull'organo bersaglio della lattazione: la mammella. In condizioni di stress termico, infatti, il sistema immunitario si debilita riducendo il suo potenziale; a questo si contrappone l'azione antinfiammatoria sistemica e locale esercitata dai composti bioattivi vegetali, che consentono di difendere l'organismo. Queste molecole naturali riescono, di fatto, a inibire a monte i segnali chimici che scatenano l'infiammazione nel tessuto mammario, limitando lo stress a carico delle cellule secretrici alveolari. Negli studi effettuati in campo questo si traduce in una riduzione sensibile e misurabile della conta delle cellule somatiche (SCC) (Stobiecka et al., 2023). Per un allevatore del circuito del Parmigiano Reggiano, ad esempio, questo si converte in estate in una diminuzione significativa del numero di mastiti cliniche e subcliniche e nel mantenimento dei premi qualità sul prezzo del latte.

Nello specifico, tra i composti bioattivi vegetali troviamo i polifenoli. Studi dimostrano come l'integrazione con miscele di erbe e composti fenolici porti a un reale trasferimento della capacità antiossidante direttamente nel latte secreto, ottenendo così un prodotto con una maggiore stabilità ossidativa (Stobiecka et al., 2023). Oltre ad influenzare direttamente il latte, si instaura un prezioso effetto: bloccando i radicali liberi a monte, i polifenoli proteggono dalla degradazione le vitamine liposolubili già naturalmente presenti nel latte, come la vitamina A e la vitamina E, arricchendone ulteriormente il profilo nutrizionale. Si tratta di un fattore tecnologico molto importante, poiché un latte più stabile resiste meglio all'irrancidimento e all'ossidazione lipidica. Questi sono requisiti fondamentali per le lunghe stagionature, come quelle che ritroviamo nel Parmigiano Reggiano, offrendo allo stesso tempo un alimento funzionale e più sano al consumatore finale (Stobiecka et al., 2022).

4.3 Effetti delle diete antiossidanti sulla produzione e qualità del latte

L'effetto più evidente quando si effettua un'integrazione antiossidante in stalla lo si osserva sulla tenuta dei volumi di latte, specialmente durante i mesi più caldi. Alcuni trial condotti su gruppi di bovine pluripare in media lattazione e sottoposte a stress termico hanno valutato l'utilizzo di specifiche miscele antiossidanti commerciali. Durante questi periodi di forte caldo, la perdita di produzione non è dovuta solo al fatto che la vacca mangia meno (con un conseguente calo dell'assunzione di sostanza secca, DMI), ma anche al forte consumo energetico a cui l'animale deve fare fronte per disperdere il calore e contrastare l'infiammazione sistemica. Gli antiossidanti bloccano questa infiammazione alla base, permettendo così alla bovina di risparmiare energia preziosa e di convogliarla nuovamente verso la mammella per la sintesi del latte (Abeyta et al., 2023).

Tuttavia, è fondamentale sottolineare che in ambito zootecnico non conta solo la quantità prodotta: la qualità del latte, e in particolare le percentuali di grasso e proteine, rappresenta un requisito imprescindibile per la resa casearia e, di conseguenza, per la redditività dell'allevamento. Diversi studi si sono concentrati sull'impiego di fonti minerali specifiche, confrontando le classiche forme inorganiche con quelle organiche o in nanoparticelle. Somministrare, ad esempio, zinco ad alta biodisponibilità non porta solo a un aumento dei chilogrammi di latte, ma ha un impatto diretto e positivo sulle percentuali di grasso e proteina registrate. A livello fisiologico, questo si spiega con il fatto che lo zinco e i complessi antiossidanti vanno a migliorare l'integrità strutturale e l'attività delle cellule epiteliali della ghiandola mammaria (le responsabili della secrezione), ottimizzando così la trasudazione dei precursori, quali amminoacidi e acidi grassi, dal torrente ematico al lume alveolare (Li et al., 2025).

Oltre a ciò, la letteratura recente sta prestando grande attenzione non solo alla conta totale delle cellule somatiche (SCC) – che ricordiamo essere un indice chiave dell'infiammazione mammaria e di possibili mastiti – ma anche alla loro differenziazione. L'innalzamento della conta delle cellule somatiche altera profondamente il profilo chimico del latte. A livello pratico, questa condizione si traduce

in una marcata riduzione del tenore in lattosio e in un deterioramento della frazione caseinica, parametri critici per la successiva resa in caldaia (Magro et al., 2023).

Le diete arricchite con antiossidanti, siano essi vitamine o fitoestratti, riducono lo stress ossidativo a carico dei globuli bianchi (macrofagi e neutrofili) residenti nel tessuto mammario. Questa protezione previene l'innescò di un'inflammazìone locale, garantendo all'allevatore un latte con SCC contenute, requisito ideale e stringente per la trasformazione in formaggi a lunga stagionatura come il Parmigiano Reggiano.

4.4 Effetti sullo stato metabolico e immunitario

Nel momento in cui la temperatura sale, l'ipotalamo della bovina reagisce attivando l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, portando a un rilascio massiccio di cortisolo (il principale ormone dello stress) nel circolo sanguigno. Un livello di cortisolo eccessivamente alto, in accoppiata col fatto che la vacca in condizioni di stress termico tende a mangiare meno (con conseguente calo del DMI), spinge l'animale verso una fase di bilancio energetico negativo (NEB). Per compensare, la bovina inizia a mobilitare le proprie riserve di grasso corporeo, causando un'impennata ematica di NEFA (acidi grassi non esterificati) e BHB (beta-idrossibutirrato), che finiscono per sovraccaricare e affaticare il fegato. È proprio questa combinazione esplosiva tra ipertermia, alterazione metabolica e superlavoro epatico a innescare una massiccia sovrapproduzione di radicali liberi (ROS), generando un profondo stato di stress ossidativo. Questo fenomeno ha effetti devastanti sulle difese immunitarie dell'animale: i ROS attaccano e danneggiano le membrane dei globuli bianchi (in particolare linfociti e neutrofili), rendendoli incapaci di muoversi e di esercitare la loro vitale attività di fagocitosi contro i patogeni. Tutto questo si traduce in una marcata vulnerabilità dell'animale: la bovina si ritrova di fatto sguarnita di fronte all'elevata pressione infettiva tipica dei mesi estivi, aprendo la strada all'attacco di microrganismi opportunisti (Gupta et al., 2022).

Alcuni studi sui polifenoli e sugli estratti vegetali hanno dimostrato come l'integrazione di questi fitoestratti possa modulare attivamente la risposta neuroendocrina dell'animale, disattivando l'iperattivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Come

risultato di questa integrazione, le analisi del sangue delle bovine trattate mostrano un crollo significativo dei livelli di cortisolo sierico, stabilizzando, di conseguenza, la glicemia e riducendo la concentrazione dei NEFA (Stingelin et al., 2024). A conferma dell'azione protettiva a livello sistemico, le analisi del sangue evidenziano anche un calo sensibile della malondialdeide (MDA), riconosciuta come il principale biomarker della perossidazione lipidica. Da un punto di vista fisiologico, questo declino certifica che il processo di degradazione ossidativa a carico delle membrane cellulari viene interrotto, preservando così l'integrità strutturale e funzionale del parenchima epatico (Ma et al., 2020).

A sostegno dei globuli bianchi sono state impiegate con successo colture di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) o oligoelementi associati a lieviti (come il cromo-lievito). L'efficacia di questi preparati risiede nella loro spiccata azione immunomodulatrice. I dati clinici riportano infatti un potenziamento tangibile della risposta umorale, testimoniato dall'aumento delle concentrazioni sieriche delle principali classi anticorpali (IgG, IgA e IgM). Questo rinvigorimento delle difese, tuttavia, non si limita alla sola frazione anticorpale, ma si estende alla complessa rete di segnalazione cellulare governata dalle citochine. Intervendendo direttamente su questi mediatori, le molecole bioattive riescono a frenare la cascata infiammatoria sistemica: gli studi confermano un marcato abbassamento delle citochine pro-infiammatorie (quali TNF- α e IL-6), accompagnato da un contestuale incremento di quelle antinfiammatorie (Du et al., 2022; Shan et al., 2020).

Dal punto di vista pratico, le ricadute zootecniche e sanitarie di questa duplice azione epatoprotettiva e immunostimolante sono di enorme valore per l'allevatore. Arrivare ai mesi critici estivi con una mandria dotata di titoli anticorpali solidi e un fegato non affaticato significa minimizzare il rischio di malattie opportunistiche. I dati di stalla confermano infatti un netto calo delle mastiti cliniche, un uso molto più limitato di farmaci antimicrobici e, per le vacche in fase di transizione, una diminuzione sensibile di metriti e ritenzioni placentari. Tutti questi fattori concorrono a salvaguardare il benessere della bovina, assicurando stabilità produttiva e un aumento tangibile della longevità dell'animale in stalla.

4.5 Effetti sulla fertilità

L'apparato riproduttore della bovina da latte è la struttura fisiologica che risente in modo più marcato e prolungato delle fluttuazioni termiche ambientali. Lo stress da caldo innesca una profonda alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio, aggravata dal concomitante bilancio energetico negativo causato dalla depressione dell'ingestione estiva. A livello ovarico, l'ipertermia compromette severamente le dinamiche di crescita della prima e della seconda ondata follicolare: il follicolo dominante subisce un rallentamento nello sviluppo, traducendosi in una drastica riduzione della capacità steroidogenica da parte delle cellule della teca e della granulosa. Questa marcata carenza nella secrezione di estradiolo non solo attenua l'espressione comportamentale dell'estro (causando il noto incremento dei "calori silenti" in stalla), ma fallisce nell'innescare un picco preovulatorio di ormone luteinizzante (LH) adeguato per ampiezza e durata. L'esito di questa anomalia endocrina è la frequente anovulazione o, qualora l'ovulazione avvenga, la formazione di un corpo luteo di dimensioni ridotte e ipofunzionante. La conseguente secrezione sub-ottimale di progesterone altera negativamente l'ambiente uterino, rendendolo del tutto inadeguato a sostenere le prime fasi dell'impianto embrionale (De Rensis e Scaramuzzi, 2003).

A questo quadro di insufficienza endocrina si somma l'azione citotossica diretta dello shock termico e dello stress ossidativo a livello cellulare. L'aumento della temperatura corporea e la massiccia vasocostrizione viscerale (attuata dall'animale per massimizzare la termodispersione periferica) favoriscono l'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) all'interno dei fluidi riproduttivi. Spostando l'analisi a livello di biologia dello sviluppo, la letteratura dimostra che la suscettibilità dell'embrione ai danni termici e ossidativi è strettamente stadio-dipendente. L'oocita in maturazione e l'embrione nelle primissime fasi di clivaggio (da 2 a 8 cellule) risultano essere bersagli estremamente vulnerabili, in quanto ancora sprovvisti di un pool intracellulare di glutazione e di meccanismi autonomi di difesa antiossidante. L'esposizione di queste strutture embrionali precoci a un fluido uterino ipertermico e saturo di radicali liberi innesca alterazioni irreversibili del citoscheletro e una rapida cascata apoptotica. Al contrario, qualora l'embrione riesca a sopravvivere e raggiungere lo stadio di morula o blastocisti (intorno al quinto giorno post-fecondazione), acquisisce una marcata

termotolleranza intrinseca e una superiore capacità di neutralizzare i ROS (Hansen, 2007).

Sotto il profilo strettamente clinico e zootecnico, la combinazione tra il fallimento del supporto luteinico e la morte apoptotica nelle fasi di pre-impianto sfocia in un'incidenza altissima di mortalità embrionale precoce (De Rensis e Scaramuzzi, 2003; Hansen, 2007). Questo fenomeno occulto è il reale fattore eziologico alla base del tracollo estivo dei tassi di concepimento e dei continui ritorni in estro a 21-35 giorni registrati nei gruppi. In questo scenario, l'integrazione della razione con citoprotettori e molecole antiossidanti assume una valenza strategica decisiva: il ripristino dell'omeostasi redox nel microambiente uterino mira proprio a tutelare l'embrione in quella critica "finestra di vulnerabilità" dei primi giorni di vita (Hansen, 2007). Supportare la biologia riproduttiva in questa fase permette di arginare il crollo del *Pregnancy Rate*, limitando la dilatazione dei *Days Open* e salvaguardando l'equilibrio economico e produttivo dell'intero allevamento.

4.6 Limiti attuali e prospettive future

Nonostante le promettenti evidenze cliniche, l'impiego su larga scala di molecole antiossidanti nella dieta della bovina da latte si scontra con alcuni limiti tecnici ancora in fase di risoluzione. Il principale ostacolo è rappresentato dall'ambiente ruminale: molti composti bioattivi, in particolare i fitoestratti e le vitamine non protette, subiscono una massiccia degradazione a opera del microbiota prima di poter raggiungere l'intestino ed essere assorbiti. Attualmente, la ricerca ingegneristica sta lavorando allo sviluppo di matrici lipidiche e tecnologie di microincapsulazione sempre più avanzate per garantire un *by-pass* ruminale ottimale e massimizzare la biodisponibilità dei principi attivi. Un ulteriore limite applicativo è rappresentato dalla stabilità termica e chimica dei composti: i processi di lavorazione (come la pellettatura) e le successive fasi di stoccaggio del mangime possono alterare la struttura e la funzionalità dei principi attivi botanici (Ahmadi et al., 2025).

Superati questi ostacoli formulativi, il futuro dell'integrazione antiossidante si sta muovendo rapidamente verso il campo della Nutrigenomica. Fino a pochi anni fa, vitamine e polifenoli venivano considerati quasi esclusivamente come *scavenger* diretti

dei radicali liberi. Oggi, i nuovi filoni di ricerca stanno dimostrando come queste molecole siano in grado di modulare l'espressione genica cellulare, agendo come veri e propri attivatori capaci di sovra-esprimere (*up-regulation*) i geni legati alla termotolleranza e inibire quelli responsabili della cascata infiammatoria (Ahmadi et al., 2025). Parallelamente, l'attenzione scientifica si sta focalizzando sull'asse intestino-microbioma, indagando come specifici antiossidanti possano selezionare e nutrire ceppi batterici in grado di produrre metaboliti sistemici utili a contrastare lo stress da caldo a livello metabolico.

L'evoluzione definitiva, tuttavia, deriverà dall'integrazione tra nutrizione clinica e *Precision Livestock Farming* (PLF). La somministrazione indifferenziata di additivi antiossidanti a tutta la mandria presenta costi elevati e un'efficacia disomogenea. L'implementazione di reti IoT (*Internet of Things*) e biosensori (quali boli ruminali, collari accelerometrici e termocamere) permetterà di monitorare in tempo reale i parametri fisiologici individuali, come la frequenza respiratoria, la temperatura corporea e il tempo di ruminazione (Bordignon et al., 2025). Questo approccio *data-driven* consentirà agli autoalimentatori e ai robot di mungitura (AMS) di erogare dosi personalizzate di antiossidanti e fitoestratti esclusivamente alla specifica bovina che sta manifestando i primissimi segnali di stress termico od ossidativo acuto. Questa sinergia tra nutrizione di precisione e monitoraggio tecnologico può rappresentare, di fatto, la chiave per garantire il benessere animale, la sostenibilità economica e la longevità della mandria nei complessi scenari climatici futuri (Bordignon et al., 2025).

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

INTRODUZIONE

Nella gestione moderna della mandria, la fase di transizione, ovvero i 21 giorni che precedono e seguono il parto, si conferma come il vero "collo di bottiglia" del ciclo produttivo. In questo ristretto arco temporale, la bovina deve affrontare una sfida metabolica di altissimo profilo: il gap tra l'energia necessaria per sostenere l'avvio della lattazione e quella effettivamente assunta con la dieta diventa critico, trascinando l'animale in un bilancio energetico negativo (NEB) difficile da colmare. Un simile sforzo metabolico si traduce inevitabilmente in un'impennata dei radicali liberi. Il paradosso è che proprio nel momento di massima vulnerabilità, le barriere immunitarie della vacca subiscono un crollo fisiologico, manifestando spesso una marcata ipovitaminosi E (Ayemele et al., 2021; Haga et al., 2021).

Se a questo equilibrio già precario si somma l'incognita del clima estivo, il quadro si complica drasticamente. L'aumento simultaneo di temperature e umidità ambientale mette in crisi la capacità di dispersione termica della bovina, portandola rapidamente in ipertermia. Questo scenario deprime ulteriormente l'ingestione di sostanza secca (DMI) e costringe l'organismo a un dispendio energetico extra nel tentativo di regolare la temperatura interna. L'esito finale di queste pressioni è l'aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), con maggiore probabilità di danni cellulari diffusi e una severa compromissione dell'intero assetto immunitario (Gupta et al., 2023).

Inoltre, gli effetti fisiologici negativi indotti dallo stress da caldo persistono anche durante le ore notturne. L'infiammazione e la fatica metabolica generano uno strascico prolungato: la bovina fatica a ristabilire l'omeostasi e resta esposta a rischi sanitari per intere settimane (Guo et al., 2021; Abeyta et al., 2023). Per l'allevatore, questo accumulo di stress smette di essere solo un problema fisiologico e diventa un pesante limite economico. A livello mammario, la sinergia tra stress da transizione e ipertermia provoca un crollo della resa latte, intaccando però anche i parametri qualitativi; lo stress ossidativo altera, infatti, la sintesi di grasso e proteine. In parallelo, l'infiammazione locale spinge verso l'alto la conta delle cellule somatiche (SCC),

esponendo la mammella a mastiti cliniche e penalizzando l'attitudine del latte alla trasformazione casearia (Li et al., 2025; Magro et al., 2023).

Le più recenti acquisizioni in ambito nutrizionale suggeriscono però che un intervento mirato sulla razione possa mitigare questo scenario. Nello specifico, la sinergia tra vitamina E e selenio si è dimostrata capace di bloccare i processi ossidativi alla base, sostenendo le difese immunitarie e riducendo l'incidenza delle patologie uterine nel post-partum (Xiao et al., 2021; Ding et al., 2025). A questa protezione si unisce il valore strategico di oligoelementi ad alta biodisponibilità, come lo zinco, importante per l'integrità degli epitelii - in particolar modo di quello mammario - il sostegno della produzione e il controllo dei livelli di cellule somatiche (Oconitrillo et al., 2024).

La prova sperimentale oggetto della presente tesi parte dal presupposto che un'integrazione di precisione con dosaggi elevati di vitamina E, selenio e zinco possa contrastare il deficit immunitario tipico della transizione estiva. L'idea alla base è che il supporto dell'equilibrio redox sistemico abbia un riflesso diretto sulla ghiandola mammaria, tutelando la persistenza della lattazione e i requisiti igienico-sanitari del latte. In concreto, l'obiettivo di questo studio condotto in campo è stato quello di pesare l'impatto di tale protocollo antiossidante su una mandria in reale assetto produttivo. Abbiamo quindi monitorato l'andamento delle performance e la salute della mammella, incrociando i rilievi di stalla con l'analisi dei principali profili ematici. Lo scopo finale è definire un quadro oggettivo dell'evoluzione fisiologica e redox dei soggetti trattati, mettendoli a confronto con un gruppo di controllo non integrato.

MATERIALI E METODI

La prova in vivo si è svolta presso un allevamento di bovine da latte ubicato nel Nord Italia (latitudine 44.9250° N; longitudine 10.3258° E), produttore latte destinato alla trasformazione in Parmigiano Reggiano e operante in stretta conformità con il relativo disciplinare (Disciplinare di produzione della denominazione di origine protetta “Parmigiano Reggiano”, 2025). L’azienda munge una media di 923.8 ± 83.6 bovine di razza Frisona italiana (Holstein) con una media produttiva pari a 36.3 ± 2.4 kg/giorno per vacca, associate a un valore di 181.4 ± 25.7 giorni in mungitura (GIM). Per ottimizzare le razioni e il management, la mandria in lattazione è suddivisa in dieci gruppi produttivi, in base alla produttività giornaliera, numero di lattazioni, giorni in mungitura e stato riproduttivo del singolo animale. Per quanto riguarda la fase di asciutta esistono tre gruppi separati in base ai giorni previsti dal parto.

Animali soggetti allo studio

L'esperimento in stalla ha preso in esame due gruppi di bovine di razza Frisona (Holstein), costituiti interamente da bovine pluripare in lattazione, allevate sotto la medesima struttura e osservate per cinque mesi consecutivi (da giugno a ottobre). Al fine di evitare bias statistici, i due gruppi di studio scelti sono stati bilanciati per i giorni di mungitura (GIM), il numero di lattazione e la produttività.

Il Gruppo 4 fungeva da gruppo di controllo (110.8 ± 5.7 capi, con una produttività media stagionale di 42,8 kg/capo/giorno in pre-prova). Questo gruppo riceveva una razione aziendale standard formulata per coprire i fabbisogni di base (NASEM, 2021; vacche adulte >700 kg con produzione stimata di 43 kg/capo/giorno), come riportato nella Tabella 3. Il Gruppo 3 (109.5 ± 5.2 capi, anch'esso con una produttività media stagionale di 42,8 kg/capo/giorno) rappresentava invece il gruppo trattato, al quale è stata somministrata una dose supplementare di premix minerale e vitaminico. L'unica differenza gestionale e nutrizionale tra i due gruppi risiedeva proprio nell'integrazione del mangime: mentre il gruppo di controllo consumava la razione standard con una copertura antiossidante di base, il gruppo trattato beneficiava del surplus nutrizionale

mirato, come possiamo vedere dai valori analitici a confronto (Tabella 3). Al gruppo trattato veniva invece fornita la dieta arricchita di vitamine e minerali, mantenendo invariati i volumi di somministrazione.

A livello di gruppo, l'ingestione di sostanza secca (DMI) è stata monitorata puntualmente con cadenza settimanale (calcolata per differenza tra il peso del TMR scaricato e l'avanzo in mangiatoria dopo 24 ore e suddivisa per il numero di capi presenti nei gruppi), per un totale di quattro rilevamenti al mese. Le dinamiche produttive di massa e i parametri qualitativi del latte sono stati invece registrati durante i controlli funzionali svolti grazie alla collaborazione con l'Associazione Regionale Allevatori dell'Emilia-Romagna ogni 45 giorni circa.

Parallelamente al monitoraggio di mandria, abbiamo individuato 15 bovine per gruppo (bilanciate per numero di lattazioni, produttività nella lattazione precedente e con parto previsto in periodi simili), monitorate individualmente, rendendole degli "animali sentinella". Queste vacche sono state monitorate a partire dall'inizio del periodo di transizione e fino a 150 giorni di lattazione. Come criterio di selezione, questi animali dovevano aver chiuso almeno due lattazioni al momento della messa in asciutta. L'assegnazione vera e propria di queste sentinelle ai due gruppi di studio è avvenuta all'incirca al settimo giorno post-parto (+7 GIM).

Gestione degli animali e strutture aziendali

Le bovine sono allevate in strutture a stabulazione libera, con una doppia fila di cuccette e lettiera in paglia. L'asportazione delle deiezioni dalle corsie avviene tramite raschiatori a fune: se nei primi due gruppi aziendali l'impianto parte in automatico circa sei volte al giorno, nei box scelti per l'esperimento l'azionamento è di tipo manuale e prevede cinque passate quotidiane. Per contrastare i cali produttivi estivi, l'azienda pone grande enfasi sulle strategie di mitigazione dello stress termico. Per andare a realizzare una mitigazione termica, l'azienda si avvale di un impianto combinato di nebulizzazione e ventilazione (fornito da CMP, Calvisano, BS), che si interfaccia direttamente con i valori di THI (*Temperature Humidity Index*) per l'avvio automatico. I recinti delle vacche in lattazione sono equipaggiati con quattro ventilatori orizzontali "Big Fan" (CMP, Calvisano, BS), puntati verso la zona di riposo, e quattro modelli

"Vertigo" (CMP, Calvisano, BS) direzionati sulla mangiatoia; nel gruppo non trattato, invece, l'allestimento prevede sei Big Fan e sei Vertigo. Per quanto riguarda la manutenzione delle lettiere, si impiega un carro lancia-paglia per distribuire materiale addizionato a un disinfettante in polvere. Sulle cuccette il ripristino viene effettuato due volte a settimana, mentre nelle aree di raggruppamento la paglia viene rabboccata semplicemente al bisogno, in media con cadenza settimanale.

Gestione della mungitura e dell'asciutta

Il protocollo aziendale prevede due mungiture giornaliere, gestite attraverso due diverse sale a spina di pesce per garantire una corretta separazione sanitaria della mandria. Una prima sala, infatti, è dedicata esclusivamente ai soggetti sani, per la raccolta del latte adatto alla caseificazione; la seconda invece è destinata alle bovine con un'elevata conta di cellule somatiche, a quelle che hanno appena partorito e ai soggetti sottoposti a terapie farmacologiche. Entrambe le sale sono a marchio DeLaval (Tumba, Svezia). La ripartizione della mandria è strategica: i gruppi di punta (dall'1 all'8, ad alta produzione) passano nell'impianto principale da 25+25 poste, mentre la struttura più contenuta da 9+9 è riservata alla gestione delle vacche fresche e di quelle a fine carriera produttiva. Da notare che per limitare lo stress termico, le sale d'attesa sono state equipaggiate con doccette di raffrescamento. Passando alla gestione del periparto, la messa in asciutta scatta a circa 60 giorni dalla data presunta del parto. La procedura prevede l'applicazione rigorosa dell'asciutta selettiva, subordinata a un preventivo controllo della sanità mammaria tramite California Mastitis Test (CMT). All'atto pratico, l'allevatore ricorre alla terapia antibiotica abbinata al sigillante (Orbeseal, Zoetis Italia S.r.l., Roma, Italia) esclusivamente per i soggetti che superano la soglia delle 150.000 cellule somatiche; le vacche sane, invece, ricevono unicamente il tappo meccanico. Dopo aver figliato, gli animali stazionano nel box post-parto per una decina di giorni, tempo strettamente necessario per esaurire i tempi di sospensione dei farmaci prima di entrare nel circolo produttivo.

Gestione alimentare generale

L'azienda vende il proprio latte per la produzione di Parmigiano Reggiano DOP. Per questo, l'alimentazione della mandria segue il rigoroso disciplinare di produzione (Disciplinare di produzione della denominazione di origine protetta "Parmigiano Reggiano"; 2025), avvalendosi della tecnica di alimentazione unifeed o TMR (*Total Mixed Ration*), esclusivamente priva di insilati e foraggi fermentati. La miscelata viene preparata quotidianamente utilizzando un carro SMAX (Padova, Italia) e scaricata in corsia in due passaggi ravvicinati durante la mattinata. Al fine di stimolare una continua ingestione da parte degli animali, il riavvicinamento del foraggio alla mangiatoia è effettuato in maniera manuale o per mezzo di uno spingiforaggio motorizzato più volte al giorno.

Gestione nutrizionale e formulazione del nucleo sperimentale

Ai fini dell'esperimento sono stati osservati due gruppi di vacche Holstein in lattazione da circa 90 animali in lattazione, dal 7° al 150° giorno in lattazione. Ai due gruppi veniva somministrata la medesima razione, riportata in Tabella 1, in grado di soddisfare al 100% i fabbisogni degli animali, secondo quanto indicato dal NASEM (2021). La razione dei due gruppi differiva principalmente per il contenuto di minerali e vitamine presenti all'interno del nucleo (Tabella 2). All'interno del nucleo somministrato nella razione del gruppo trattato era presente una dose aggiuntiva di zinco, vitamina E, selenio, calcio, magnesio e ferro. In più, per aiutare la microflora ruminale e modulare le difese immunitarie, sono stati inseriti lieviti inattivati (*S. cerevisiae*) arricchiti di selenio e relative pareti cellulari.

TABELLA 1: Formula della razione e composizione chimica delle razioni somministrate ai gruppi in lattazione

Media±SD	
Ingredienti	
Frumento foraggero, kg	0.08 ± 0.29
Loietto, kg	0.79 ± 0.99
Fieno maggengo, kg	3.62 ± 1.40
Medica mista, kg	6.92 ± 0.63
Nucleo ¹ , kg	15.75 ± 0.7
Composizione chimica ²	ControlloTrattato
SS, %TQ	77.35 ± 0.576.49 ± 0.65
Ceneri, % SS	9.41 ± 0.848.04 ± 0.39
Azoto, % SS	2.28 ± 0.092.35 ± 0.05
Proteine, % SS	14.27 ± 0.5414.66 ± 0.3
Grassi, % SS	2.44 ± 0.132.57 ± 0.16
NDF, % SS	35.96 ± 0.6935.17 ± 2.04
ADF, % SS	21.61 ± 1.0321.88 ± 2.02
ADL, % SS	4.46 ± 1.164.73 ± 0.59
Amido, % SS	25.78 ± 0.4424.25 ± 1.47

¹Granturco, granturco schiacciato, polpa di barbabietola (da zucchero) essiccata, farina (di semi) di soia decorticati da OGM, semi di soia estrusi da OGM, seme di lino integrale estruso, frumento, melasso di canna da zucchero, bicarbonato di sodio, fosfato bicalcico, cruschetto di frumento, prodotti del lievito (pareti cellulari di *S.cerevisiae*), carbonato di calcio, cloruro di sodio, ossido di magnesio, lieviti inattivati (*S.cerevisiae*). L'inclusione di un blend costituito da vitamina E, selenio organico, beta-carotene, pareti cellulari di lievito e lieviti inattivati. Premix incluso, vedi Tabella 2.

²SS (sostanza secca); NDF (fibra detergente neutra); ADF (fibra detergente acida); ADL (acido detergente lignina)

TABELLA 2: Composizione minerale e vitaminica dei premix inclusi nei nuclei dei due gruppi considerati.

	Controllo	Trattato
Natrolite-fonolite (mg/kg)	500	15100
Vitamina A (U.I./Kg)	9000	9000
Vitamina D3 (U.I./Kg)	3200	3200
Vitamina E (mg/Kg)	100	500
Vitamina B1 (mg/Kg)	2	2
Vitamina B2 (mg/Kg)	1.2	1.2
Niacinamide (mg/Kg)	200	200
Beta-carotene (mg/Kg)	1.5	1.5
Manganese (ossido manganoso) (mg/Kg)	60	60
Ferro (Solfato di ferro monoidrato) (mg/Kg)	60	60
Zinco (Ossido di zinco) (mg/Kg)	72	220
Iodio (Ioduro di potassio) (mg/Kg)	5	5
Zinco (Chelato di zinco di amminoacidi idrato) (mg/Kg)	60	220
Selenio (Selenito di sodio in granuli rivestiti) (mg/Kg)	0.5	0.5
Selenio (Lievito al selenio S.Cer. inattivato) (mg/Kg)	0.4	0.5

TABELLA 3: Composizione nutrizionale delle razioni sperimentali (TMR) e confronto con i fabbisogni NASEM (2021).

		FABBISOGNI NASEM 2021 (Vacche adulte >700kg) 43kg/capo/gg, 3,8% grasso, 3,3% proteine	Mangime	
			Controllo	Trattate
	Sostanza secca		82,7	83,7
Ceneri	%SS		9,7	8,9
Proteine	%SS	17,7	15,7	15,4
Grassi	%SS		2,8	3,2
aNDF	%SS	Min 25-33	25,9	27,3
ADF	%SS		13,3	12,5
ADL	%SS		3,1	2,3
Amido	%SS	Max 22-30	33,31	35,65
Na	mg/kg	2100	3461	3483
Mg	mg/kg	1700	2520	3014
P	mg/kg	3500	4471	4546
S	mg/kg	2000	1989	2147
Cl	mg/kg	2900	2205	2689
K	mg/kg	9900	9218	9051
Ca	mg/kg	5800	15750	18490
Fe	mg/kg	16	289	632
Cu	mg/kg	10	7,65	9,47
Zn	mg/kg	61	72,4	374
Se	mg/kg stimati	0,3	0,188	0,234
Vit E	UI/kg stimati	20	100	500

Campionamenti e analisi

Il monitoraggio sulle bovine selezionate ha previsto una serie di valutazioni corporee e campionamenti ai seguenti intervalli: 7, 20, 60 e 150 giorni in mungitura (GIM).

BCS (body condition score): lo stato di ingrassamento e l'efficienza nell'utilizzo dell'energia — intesa sia come mantenimento che come resa in latte o ripristino delle riserve corporee — sono stati monitorati attraverso l'attribuzione del Body Condition Score (BCS, Edmonson et al., 1989). Si tratta di un metodo di valutazione soggettivo che permette di stimare accuratamente la quantità di tessuto adiposo depositato sotto la cute. L'operazione richiede di palpare e osservare punti strategici del bacino e della schiena: regione lombare, processi trasversi, ischi, ilei e base della coda (Noordhuizen et al., 2003). I dati raccolti sono stati standardizzati utilizzando la griglia di riferimento

a 5 gradi (dal grado 1 per l'estrema magrezza fino al grado 5 per un ingrassamento avanzato), applicando i criteri di giudizio riportati a seguire.

1 – **Molto magra.** L'animale appare estremamente magro; tuberosità iliache ed ischiatiche e processi trasversi delle vertebre lombari risultano ben sporgenti e facilmente identificabili al tatto. È quasi assente il grasso di copertura e la cute aderisce ai profili ossei.

2 – **Magra.** Le strutture ossee rimangono visibili, ma si nota un leggero deposito di tessuto adiposo nella zona della groppa e intorno alla coda. I processi trasversi delle vertebre lombari sono ancora angolosi ma meno pronunciati.

3 – **Condizione media/ottimale.** Le prominenze ossee non sono più evidenti, pur restando percepibili alla palpazione. Il profilo dorsale risulta più regolare e liscio, segno di una copertura adiposa adeguata e di un buono stato nutrizionale.

4 – **Buona condizione.** È presente un marcato accumulo di grasso nelle aree dei processi trasversi delle vertebre lombari e delle tuberosità ischiatiche e iliache. Le anche e la base della coda assumono un aspetto più tondeggiante e i rilievi ossei non sono più distinguibili.

5 – **Eccessivamente grassa/obesa.** Il corpo mostra un'evidente rotondità dovuta all'abbondante strato di grasso sottocutaneo. I processi trasversi delle vertebre lombari non sono né visibili né palpabili; la superficie corporea risulta liscia e uniforme (Edmonson et al., 1989).

Urine e feci: per raccogliere le urine si procedeva alla stimolazione manuale della zona perineale, esattamente tra la vulva e l'attacco posteriore della mammella; il materiale fecale veniva invece prelevato per via rettale. Contestualmente alla raccolta, ogni campione di feci è stato valutato visivamente per assegnare il Fecal Score (FS, Hutjens et al., 2010) secondo le **categorie di valutazione** qui riportate:

Punteggio 1 – Deiezioni estremamente fluide, di aspetto acquoso che escono a getto arcuato, difficilmente riconoscibili come feci vere e proprie. Questa condizione è tipica di bovine con gravi problematiche sanitarie, in particolare di natura infettiva.

Punteggio 2 – Feci a consistenza molto morbida, che tendono a espandersi rapidamente sul terreno al momento della defecazione con un'altezza inferiore ai 2 cm. Tale quadro può essere correlato a squilibri della razione o al consumo di foraggi molto giovani e ricchi di acqua.

Punteggio 3 – Feci con consistenza intermedia, più compatte ma ancora pastose. All'impatto con il suolo si formano cumuli ben definiti e di spessore ridotto, che non lasciano impronte evidenti al calpestio, altezza compresa tra 2 e 5 cm. Questo livello è considerato ottimale e indice di una razione correttamente bilanciata e ben digerita.

Punteggio 4 – Defezioni più solide e consistenti, che si depositano mantenendo la forma e mostrando margini concentrici, altezza superiore ai 5 cm. Quando vengono calpestate lasciano un'impronta dello stivale. Nelle vacche in lattazione questo punteggio suggerisce la presenza di un'alimentazione squilibrata, mentre può essere fisiologico nelle vacche asciutte e nelle manze.

Punteggio 5 – Feci molto dure, secche e compatte, spesso aggregate in palline, con aspetto simile a quello equino. Al contatto con lo stivale rimane chiaramente impressa la suola. È un quadro comunemente osservato nelle bovine non in lattazione e nelle manze, e segnala la necessità di intervenire con una correzione della dieta (Noordhuizen et al., 2003).

Temperatura esterna: è stata valutata tramite l'utilizzo di un termometro ad infrarossi (Fluke Corporation, Everett, WA, USA).

Temperatura interna: determinata mediante l'utilizzo di un termometro al gallio (Gima S.p.A, Gessate, Milano, Italia).

Sangue: i prelievi sono stati eseguiti dal veterinario aziendale, ottenendo due aliquote in provette vacutainer (Greiner Bio-One S.r.l, Cassina de Pecchi, Italia) con provetta contenente litio-eparina (LH). Il sangue successivamente è stato centrifugato per estrarre il plasma.

Controlli funzionali: durante i nove controlli funzionali effettuati ad intervalli di 45 giorni da parte dell'Associazione Regionale Allevatori dell'Emilia-Romagna (A.R.A.E.R., Bologna, Italia) sono stati raccolti i dati individuali di tutti gli animali

presenti nei 2 gruppi considerati. Inoltre, in tale occasione, è stato campionato il latte degli animali monitorati individualmente.

Stato di salute e riproduttivo: Al momento del parto, per ogni bovina in prova, si è provveduto al monitoraggio e alla registrazione del peso, del sesso e della razza del vitello. Inoltre, per ogni soggetto presente nel gruppo di studio è stato monitorato costantemente il profilo sanitario, annotando l'insorgenza di eventuali patologie.

Analisi dei campioni

Razione: Le procedure di laboratorio sono iniziate con la preparazione dei campioni, essiccati in stufa a 55 °C per 48 ore e successivamente macinati utilizzando un mulino a martelli (Retsch S/S Cross Beater Hammer Mill Sk1, Haan, Germania) fino al passaggio completo attraverso un setaccio da 1 mm. L'indagine sulla componente fibrosa (NDF, ADF e ADL) è stata condotta tramite sistema Fibertech, applicando il metodo di Van Soest et al. (1991). Nel dettaglio, l'analisi dell'aNDF ha richiesto l'uso di α -amilasi termostabile e la correzione dei residui per le ceneri. A valle delle operazioni di lavaggio, essiccazione e incenerimento a 550 °C, i valori sono stati normalizzati come percentuale sulla Sostanza Secca (SS). La frazione minerale globale (ceneri) è stata determinata per semplice combustione a 550 °C per una durata di 4 ore. Per quanto riguarda la quota lipidica, l'estratto etereo (EE) è stato isolato con la metodica Soxhlet-Henkel, come indicato dal Regolamento (CE) n. 152/2009. Il profilo proteico è stato invece indagato a partire dall'azoto totale ricavato col metodo Kjeldahl (AOAC 984.13), strutturato nelle classiche fasi di digestione in H_2SO_4 con catalizzatore, distillazione di NH_3 e titolazione; da tale valore si è risaliti alle proteine grezze (CP) moltiplicando per 6,25 ed esprimendo il dato finale su SS (Mizael et al., 2020). Infine, il contenuto di amido totale è stato quantificato ricorrendo al metodo enzimatico-colorimetrico AOAC 996.11 (α -amilasi / amiloglucosidasi).

Urine e feci: sono stati utilizzati per la determinazione del pH mediante pHmetro (Hanna Instruments, Villafranca Padovana, Italia).

Sangue con LH: Per la valutazione dello stato redox sistemico, la capacità antiossidante totale è stata indagata applicando la metodica FRAP (*Ferric Reducing*

Antioxidant Power), in accordo con il protocollo descritto da Zou et al. (2011). Contestualmente, le concentrazioni plasmatiche di vitamina E sono state quantificate internamente presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, avvalendosi dell'impiego di un fluorimetro portatile I-check (BioAnalyt GmbH, Teltow, Germania). Infine, per quanto concerne i livelli di zinco circolante, le determinazioni analitiche sono state affidate all'Istituto Zooprofilattico delle Venezie. In quest'ultimo caso, le letture strumentali sono state eseguite su un sotto-campione rappresentativo di 16 prelievi, equamente ripartiti tra il lotto delle bovine trattate (8) e i soggetti di controllo (8).

Latte: per quanto riguarda la composizione del latte, i campioni prelevati ogni 45 giorni dal sottogruppo delle 30 vacche in transizione sono stati processati presso il Laboratorio Milca (Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie). In questa sede, la definizione della composizione centesimale è stata ottenuta avvalendosi della tecnologia MilkoScan FT3 (Foss Electric A/S, Hillerød, Danimarca). Per quanto riguarda l'indagine specifica sui micronutrienti, le quantificazioni dello zinco sono state affidate alle strumentazioni del Centro Lattiero Caseario e Agroalimentare (CLCA) di Parma. Infine, il dosaggio della vitamina E secreta nel latte è stato condotto replicando lo stesso iter analitico adottato per le frazioni plasmatiche, ossia tramite la lettura diretta al fluorimetro I-check (BioAnalyt GmbH, Teltow, Germania).

Analisi statistica

L'intera elaborazione statistica del database sperimentale è stata processata tramite il software SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29; IBM Corp; Armonk, NY). Tutte le variabili oggetto di studio sono state analizzate mediante il modello lineare univariato, previa valutazione della normalità di distribuzione dei dati effettuata mediante test di Kolmogorov-Smirnov. In tale modello, il gruppo di appartenenza è stato considerato come effetto fisso, mentre i valori rilevati a 7 GIM sono stati utilizzati come covariata. I confronti tra i gruppi sono stati effettuati mediante l'applicazione del test *post-hoc* di Bonferroni. Di contro, l'evoluzione temporale dei dati individuali e della produttività ha richiesto l'impiego di un modello di analisi a misure ripetute. Pur mantenendo il gruppo come effetto fisso, in questa configurazione i singoli parametri

rilevati al settimo giorno post-partum sono stati introdotti nel modello sotto forma di covariate; un accorgimento fondamentale per pesare il dato e normalizzare le differenze fisiologiche di partenza tra le singole bovine. A chiudere il quadro dell'analisi, le eventuali differenze registrate nell'incidenza delle patologie tra i due recinti sono state verificate mediante Chi-Square Test.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Analisi nutrizionale e copertura dei fabbisogni

Dal confronto tra la composizione della razione (TMR) somministrata durante la prova, ed i fabbisogni indicati dal NASEM (2021) per vacche adulte in lattazione, esaminabili nella Tabella 3, emerge, per quanto riguarda le fonti e le concentrazioni degli oligoelementi, quanto di seguito riportato:

- **Zinco (Zn):** A fronte di un fabbisogno teorico di 61 mg/kg di SS, il TMR del gruppo di controllo ha fornito 78,8 mg/kg, garantendo un margine di sicurezza del 29,2% rispetto alle raccomandazioni. Nel gruppo trattato, l'integrazione ha spinto la concentrazione a 118 mg/kg (+93,4% rispetto al NASEM). Analizzando la composizione del nucleo vitaminico-minerale, possiamo notare come: l'aumento di zinco nel gruppo trattato non è stato fornito solo tramite la forma inorganica (ossido di zinco, passato da 72 a 220 mg/kg nel premix), ma è stato garantito un cospicuo apporto di zinco in forma organica (chelato di amminoacidi idrato), incrementato da 60 a ben 220 mg/kg, assicurando così una biodisponibilità nettamente superiore a livello intestinale.
- **Vitamina E:** Il divario nutrizionale si fa ancora più marcato analizzando la vitamina E, per la quale il NASEM stima un fabbisogno di 20 UI/kg di SS. La dieta di base (controllo) ha fornito 59 UI/kg (pari a quasi il triplo del fabbisogno, +195%). Tuttavia, l'impatto reale si è concretizzato nel gruppo trattato, il cui TMR ha raggiunto le 296 UI/kg stimate, arrivando a coprire i requisiti base di quasi 15 volte (+1380%).
- **Selenio (Se):** Per il selenio (fabbisogno NASEM di 0,3 mg/kg), i valori stimati di base nel TMR si sono attestati su 0,111 mg/kg per il controllo e 0,138 mg/kg per il trattato. Questo giustifica la necessità di un'integrazione mirata nel nucleo: come vediamo dai cartellini, in entrambi i gruppi è stata mantenuta una quota inorganica (selenito di sodio, 0,5 mg/kg nel premix), ma nel gruppo trattato è stata incrementata la frazione organica altamente assimilabile (lievito al selenio inattivato, *Saccharomyces cerevisiae*, passato da 0,4 a 0,5 mg/kg nel premix), per ottimizzare la risposta cellulare.

Ingestione (DMI)

Come evidenziato dagli studi effettuati in stalla, i due gruppi sperimentali (Gruppo 3 trattato e Gruppo 4 di controllo) erano costituiti interamente da bovine pluripare in lattazione.

TABELLA 4: Assunzione giornaliera di sostanza secca (dry matter intake -DMI) in estate rilevata nei due gruppi.

DMI, kg	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
	29.179	28.045	0.14	0.027

È stato osservato un primo valore di rilievo clinico e zootecnico per quanto riguarda l'ingestione di sostanza secca (DMI). Nel corso dei mesi critici estivi, le bovine appartenenti al gruppo trattato hanno, infatti, registrato un'assunzione media giornaliera superiore rispetto al gruppo di controllo (Tabella 4), con un incremento di +1,13 kg/giorno, pari a un +4,04%.

Questa differenza risulta particolarmente indicativa se inquadrata nel contesto ambientale della prova. Come già documentato in letteratura, l'esposizione prolungata a condizioni di stress termico causa nella bovina da latte una drastica e volontaria riduzione dell'ingestione (DMI) (West, 2003), intesa come strategia comportamentale e metabolica per limitare la termogenesi endogena derivante dalle fermentazioni ruminali (Tao et al., 2020). Questa condizione, in aggiunta al periodo di transizione, può aggravare lo stato dell'animale spingendolo maggiormente verso un bilancio energetico negativo (NEB) e aggravando lo squilibrio ossidativo sistemico (Polsky & von Keyserlingk, 2017; Ayemele et al., 2021).

Il mantenimento di un'ingestione più elevata nel gruppo trattato suggerisce una netta mitigazione di questo meccanismo depressivo. Questo effetto non è da attribuire unicamente all'azione sistemica della vitamina E e del selenio, ma verosimilmente alla sinergia dell'intero pacchetto integrativo. La presenza massiccia di Natrolite-fonolite (un alluminosilicato con forte potere tampone e capacità di scambio ionico) unita ai lieviti inattivati (*S. cerevisiae*), potrebbe, verosimilmente, aver stabilizzato il pH ruminale e favorito l'attività della microflora cellulolitica (Su et al., 2025). Parallelamente, la neutralizzazione precoce dei radicali liberi a livello epatico ed

endoteliale, garantita dall'alto dosaggio di antiossidanti, ha limitato la cascata infiammatoria sistemica (riducendo l'iperattivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene) (Zhang et al., 2025). L'esito combinato di un ambiente ruminale stabile e di un minore stato infiammatorio ha permesso alla bovina trattata di sopportare il carico termico estivo mantenendo una maggiore propensione all'alimentazione, attenuando così il classico crollo dell'assunzione di sostanza secca (Guo et al., 2021; Abeyta et al., 2023).

Performance Produttive

La Tabella 5 riporta le medie produttive quantitative e qualitative e la conta delle cellule somatiche.

TABELLA 5: Produzione e qualità del latte nei due gruppi considerati.

	CF	Trattato	Controllo	SEM	P - Value
MY, kg	1	39.3	39.6	0.623	0.801
	2	42.9	41.7	0.640	0.378
	3	44.1	43.1	0.537	0.367
	4	44.7	45.8	0.672	0.431
	5	43.0	43.8	0.587	0.472
Grasso, %	1	3.53	3.42	0.051	0.352
	2	3.18	3.15	0.048	0.827
	3	3.76	3.85	0.066	0.578
	4	3.38	3.39	0.050	0.928
	5	4.01	4.00	0.052	0.927
Proteine, %	1	3.42	3.51	0.023	0.041
	2	3.47	3.49	0.025	0.670
	3	3.35	3.60	0.026	<0.001
	4	3.23	3.28	0.026	0.266
	5	3.55	3.29	0.070	0.003
Caseina, %	1	2.61	2.71	0.021	0.019
	2	2.72	2.74	0.021	0.644
	3	2.46	4.91	1.065	0.334
	4	2.53	2.58	0.021	0.199
	5	2.70	2.71	0.019	0.670
Lattosio, %	1	4.71	4.80	0.017	0.026
	2	4.67	4.73	0.012	0.019
	3	4.82	4.76	0.013	0.028
	4	4.65	4.65	0.023	0.928
	5	4.64	5.33	0.486	0.107

Urea	1	27.7	26.2	0.309	0.042
	2	25.7	19.4	0.358	<0.001
	3	28.3	29.5	0.324	0.099
	4	20.9	21.4	0.254	0.294
	5	28.4	26.1	0.337	<0.001
Grasso, kg	1	1.38	1.33	0.026	0.447
	2	1.34	1.29	0.025	0.350
	3	1.64	1.62	0.028	0.802
	4	1.48	1.50	0.568	0.694
	5	1.71	1.74	0.029	0.615
Proteine, kg	1	1.33	1.38	0.019	0.198
	2	1.46	1.43	0.017	0.434
	3	1.47	1.53	0.017	0.089
	4	1.44	1.48	0.669	0.287
	5	1.51	1.54	0.019	0.544
Lattosio, kg	1	1.86	1.91	0.031	0.407
	2	2.01	1.98	0.032	0.644
	3	2.13	2.06	0.027	0.195
	4	2.09	2.14	0.961	0.449
	5	2.05	2.07	0.029	0.645
Cellule Log ₁₀ X 10 ³ cellule/mL	1	1.95	1.77	0.035	0.028
	2	1.85	1.93	0.037	0.397
	3	1.81	1.84	0.032	0.733
	4	1.67	1.69	0.036	0.754
	5	1.85	1.89	0.032	0.491
ECM, kg	1	36.6	36.7	0.560	0.932
	2	37.9	37.0	0.512	0.436
	3	42.2	42.2	0.496	0.955
	4	39.9	40.7	0.526	0.430
	5	43.0	43.7	0.572	0.538

I dati relativi alla produzione non hanno evidenziato differenze tra i due gruppi, nonostante l'evidente differenza registrata nell'ingestione di sostanza secca a favore del gruppo trattato. Le produzioni si sono mantenute su medie simili, oscillando da un minimo di circa 39 kg/d nel primo controllo fino a picchi di 44-45 kg/d nei controlli centrali dell'estate. Non sono state evidenziate variazioni statisticamente significative tra i gruppi neanche per quanto riguarda le rese di latte corretto per l'energia (ECM). Questo risultato, tuttavia, va letto tenendo a mente l'aumento dell'ingestione di sostanza secca (DMI) osservato nel gruppo trattato: possiamo ipotizzare che l'energia extra assunta dagli animali non sia stata destinata alla sintesi latte, bensì è stata utilizzata per soddisfare i costi metabolici supplementari indotti dalla termoregolazione,

preservando così le riserve corporee e lo stato di salute dei soggetti sotto stress termico. (West, 2003; Zhang et al., 2025).

Anche se a prima vista questo dato potrebbe sembrare contraddittorio, in realtà si spiega analizzando la fisiologia della bovina in condizioni di stress da caldo. In condizioni termo-neutrali, un aumento dell'ingestione (DMI) si traduce in modo quasi lineare in un incremento della sintesi lattea. Tuttavia, durante i mesi estivi, le priorità metaboliche della bovina cambiano. Come spiegato in letteratura (West, 2003; Baumgard e Rhoads, 2013), quando l'animale entra in stress termico, la sopravvivenza e il mantenimento dell'omeostasi termica diventano la priorità assoluta, declassando la produzione di latte a una funzione metabolica secondaria. Con l'arrivo del caldo, quindi, la vacca riorganizza le sue necessità fisiche (Bernabucci et al., 2010).

I meccanismi fisiologici messi in atto per dissipare il calore – tra cui il drastico aumento della frequenza respiratoria, la vasodilatazione periferica e l'incremento del ritmo cardiaco – richiedono un dispendio energetico enorme, che viene definito "costo di mantenimento aggiuntivo". Di conseguenza, l'eccesso di nutrienti ed energia garantito dal maggior DMI nel gruppo trattato non è stato indirizzato verso la ghiandola mammaria per incrementare la quota di latte. Al contrario, è stato deviato dall'organismo per sostenere la termoregolazione, per arginare lo stress ossidativo sistemico e per supportare le delicate funzioni dell'apparato riproduttore (Collier et al., 2012).

Sostanzialmente, l'integrazione con antiossidanti ha agito come uno scudo metabolico. Ha fornito all'animale le risorse energetiche extra necessarie per difendersi dall'impatto del clima estivo, permettendogli di sostenere gli alti costi della termoregolazione senza dover intaccare drammaticamente le proprie riserve corporee (Baumgard e Rhoads, 2013; Abeyta et al., 2023).

In condizioni di termo-neutralità, la relazione tra ingestione (DMI) e produzione lattea è documentata come lineare: all'aumentare dell'ingestione corrisponde un incremento diretto e proporzionale nella sintesi delle componenti del latte (West, 2003). Nel nostro studio si conferma quanto osservato nei contesti di stress ambientale: come in questa specifica situazione, di stress da caldo, la bovina attui una strategica ripartizione dei nutrienti.

Come descritto da Bernabucci et al. (2010), quando la temperatura sale, la lattazione retrocede a funzione metabolica secondaria: la vacca riorganizza le proprie priorità per salvaguardare l'omeostasi termica. West (2003) ha infatti dimostrato che i costi metabolici di mantenimento aumentano drasticamente sotto stress termico — fino al 20% in più rispetto al normale — assorbendo energia che in condizioni di benessere sarebbe stata destinata alla secrezione mammaria. A questo si aggiunge il dispendio energetico legato all'iperattivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e alla risposta allo stress ossidativo, un meccanismo che Zhang et al. (2025) hanno confermato essere estremamente dispendioso per l'organismo. In quest'ottica, l'energia extra assunta dal gruppo trattato non è andata persa: ha agito come uno scudo metabolico. Ha fornito alle bovine le risorse necessarie per sostenere i costi nascosti della termoregolazione (termolisi, modulazione infiammatoria e protezione cellulare) senza dover intaccare le riserve corporee, garantendo così una stabilità produttiva che, in assenza di tale supporto, avrebbe verosimilmente subito un calo significativo.

Per quanto riguarda la composizione chimica del latte, i dati della Tabella 5 mostrano come l'integrazione abbia lavorato a livello mammario. Solitamente, durante la stagione estiva, le bovine sono maggiormente predisposte alla depressione della sintesi lipidica, fenomeno spesso causato dalle alterazioni del pH ruminale indotte dallo stress da caldo. Nel nostro studio, tuttavia, non abbiamo osservato un calo del titolo di grasso in nessuno dei due gruppi. Questo risultato potrebbe essere dovuto anche all'efficacia delle strategie di gestione adottate in stalla, le quali hanno permesso di prevenire possibili alterazioni ruminali che solitamente portano alla depressione dei grassi, garantendo quindi una maggior costanza nel profilo lipidico anche durante i picchi termici della stagione estiva.

Se però analizziamo la frazione proteica, notiamo un decorso leggermente diverso. In alcuni dei controlli centrali dell'estate, il latte del gruppo trattato ha mostrato una lieve flessione percentuale delle proteine rispetto al gruppo di controllo. Questo fenomeno ha una spiegazione fisiologica che va cercata direttamente nei meccanismi di assorbimento del rumine. Aggiungere dosaggi così spinti di micronutrienti, minerali e tamponi (come l'elevato apporto di zinco e natrolite-fonolite presenti nel mangime sperimentale) può innescare delle leggere competizioni per l'assorbimento a livello di

parete ruminale e intestinale (Grešáková et al., 2021). Quindi, una concentrazione così massiccia di questi elementi nel rumine va ad alterare in minima parte le normali dinamiche di fermentazione (Su et al., 2025), intralciando leggermente la sintesi di proteina microbica batterica, che rappresenta la materia prima fondamentale per la produzione di caseine nella mammella.

Altra nota rilevante, emersa dall'analisi, è l'andamento della salute mammaria, monitorato attraverso la conta delle cellule somatiche espresse in base logaritmica (Log_{10}). Durante l'intera prova i valori si sono mantenuti stabili e sotto controllo, senza mostrare i classici picchi infiammatori che tipicamente ci si aspetta nei mesi più caldi. Questo mantenimento della sanità mammaria rappresenta un ottimo risultato se si considera la normale fisiologia dello stress termico: come noto, l'ipertermia innesca una massiccia produzione di radicali liberi che va a deprimere le difese immunitarie dell'animale, compromettendo l'efficienza di linfociti e neutrofili, e rendendo così la bovina maggiormente vulnerabile alle infezioni e alle mastiti ambientali (Gupta et al., 2022). Il fatto che gli animali nel nostro studio non abbiano manifestato questa vulnerabilità può suggerire come l'integrazione abbia efficacemente contrastato lo stress ossidativo sistemico, prevenendo l'immunosoppressione estiva e tutelando l'integrità della ghiandola mammaria.

Questo parametro non indica solo uno stato di benessere animale in stalla, bensì anche un dettaglio economico vitale per l'azienda: risulta fondamentale mantenere un latte con una conta di cellule somatiche bassa, in quanto è un requisito tecnologico di legge per le stalle inserite nel circuito della DOP Parmigiano Reggiano. Solo un latte sano, infatti, garantisce rese casearie ottimali e tempi di affioramento e coagulazione adeguati nelle caldaie del caseificio (Accademia dei Georgofili, 2021).

Profilo ossidativo sistemico (FRAP)

Esaminando adesso le analisi ematiche, un parametro centrale della prova era la valutazione della capacità antiossidante totale del plasma, misurata attraverso il test FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). I prelievi effettuati sulle vacche sentinella a scadenze precise (+7, +20, +60 e +150 giorni in lattazione) hanno mostrato un quadro interessante, come possiamo notare nella Tabella 6.

TABELLA 6: Capacità antiossidante plasmatica (FRAP, $\mu\text{mol/L}$) nei due gruppi ai diversi giorni di lattazione.

FRAP, $\mu\text{mol/L}$	Giorni di lattazione	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
	7	86.062	85.14	2.33	0.849
	20	110.619	103.66	4.93	0.394
	60	123.961	117.23	4.85	0.434
	150	107.236	105.38	7.46	0.879

I valori medi del FRAP si sono mantenuti praticamente sovrapponibili tra i due gruppi per l'intera durata dell'esperimento. A 7 giorni di lattazione i valori si attestavano su 86.06 per le trattate contro 85.14 $\mu\text{mol/L}$ dei controlli ($p = 0.849$), e questa tendenza di parità statistica si è confermata anche nei successivi controlli a 20, 60 e 150 giorni.

Questo esito potrebbe sembrare insoddisfacente, quasi a indicare che l'integrazione non abbia avuto alcun effetto a livello ematico. In realtà, possiamo spiegare questo risultato grazie alla fisiologia della bovina: l'organismo, infatti, gestisce il proprio equilibrio redox in modo estremamente rigoroso, mantenendo i biomarcatori ematici all'interno di range omeostatici molto stretti, i quali però vengono alterati in caso di gravi squilibri ossidativi o severi deficit nutrizionali (Celi, 2011). Inoltre, occorre sottolineare che il gruppo di controllo riceveva la razione aziendale standard, già formulata per soddisfare i fabbisogni di base stabiliti dalle linee guida nutrizionali; non partendo da una condizione di carenza clinica o subclinica, è fisiologicamente coerente che non si siano registrate variazioni globali significative rispetto al gruppo trattato (Spears e Weiss, 2008).

Citando la biologia cellulare, il sistema antiossidante lavora per mantenere una costante omeostasi nel torrente ematico (Ayemele et al., 2021). Il sangue possiede infatti un vero tetto limite per quanto riguarda la capacità antiossidante totale (FRAP). Tuttavia, la stabilità di questo indicatore globale non implica un'assenza di assorbimento. Al contrario, come mostrato dai dati successivi sulla Vitamina E plasmatica (Tabella 7), la concentrazione specifica di questa molecola nel sangue subisce un incremento drastico, arrivando quasi a triplicare nelle bovine trattate. La corretta lettura fisiologica evidenzia come il FRAP resti costante per via dei rigidi

meccanismi omeostatici, mentre la Vitamina E si accumula attivamente nel plasma, che funge da vettore sistemico. Una volta saturata la quota di sicurezza nel sangue utile a neutralizzare i radicali liberi (Ponnampalam et al., 2022), la vacca devia strategicamente il surplus circolante verso i distretti a maggiore richiesta. La vitamina in surplus, quindi, non si esaurisce nel circolo ematico, ma viene massicciamente captata, attraversa la ghiandola mammaria e finisce direttamente nel latte.

Bio-trasferimento della Vitamina E nel latte e vantaggi tecnologici

L'effettiva destinazione del surplus vitaminico è confermata dall'analisi del latte: il dosaggio quantitativo del tocoferolo restituisce infatti il dato più significativo della prova. Come si può osservare dalla Tabella 8, le bovine appartenenti al gruppo trattato hanno fatto registrare un incremento della concentrazione media di tocoferolo del +48,8% (2,53 mg/L contro 1,70 mg/L), staccando in modo netto il gruppo di controllo. Si tratta di un ottimo risultato, supportato da una solida significatività statistica ($p = 0.008$).

TABELLA 7: Concentrazione di Vitamina E plasmatica nei due gruppi oggetto di studio.

Vitamina E plasmatica, mg/L	Giorni di lattazione	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
	7	1.762	1.93	0.13	0.547
	20	3.023	1.86	0.20	0.004
	60	6.792	2.24	0.58	<0.001
	150	7.00	2.90	0.63	<0.001

TABELLA 8: Contenuto di Vitamina E nel latte nei due gruppi oggetto di studio.

Vitamina E latte, mg/L	Giorni di lattazione	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
	40	2.536	1.7	0.33	0.0080
	80	2.709	2.325	0.189	0.8750
	120	3.082	2.238	0.135	0.00600

Quest'ottimo risultato viene confermato dai meccanismi di secrezione fisiologica. Per quanto riguarda la vitamina E, l'organismo ne previene l'accumulo plasmatico

metabolizzando l'eccesso principalmente a livello epatico, dove enzimi specifici avviano la degradazione della molecola in metaboliti idrosolubili che vengono successivamente escreti per via renale attraverso le urine, o eliminati per via biliare con le feci. Allo stesso tempo, per frenare lo stress ossidativo, una buona quota in circolo viene deviata dal torrente ematico e captata dalla ghiandola mammaria per essere escretata nel latte e, in maggiori concentrazioni, nel colostro (Haga et al., 2021). Questo bio-trasferimento è ottimizzato dalla fonte vitaminica: l'isomero naturale (RRR- α -tocoferolo) garantisce infatti livelli di secrezione mammaria significativamente maggiori rispetto alle miscele sintetiche (Jensen et al., 2006, cit. in Haga et al., 2021).

Al di là della risposta fisiologica, questo risultato apre considerazioni rilevanti anche per chi lavora nel settore della trasformazione casearia. Un latte con un simile corredo antiossidante acquisisce un valore tecnologico e commerciale nettamente superiore (Havemose et al., 2006). Il tocoferolo, infatti, funge da potente protettore naturale, inibendo la cascata radicalica responsabile dell'ossidazione lipidica (Focant et al., 1998). Per una filiera di eccellenza come quella del Parmigiano Reggiano, che si basa su lunghissime stagionature, proteggere la frazione grassa dall'ossidazione è vitale per prevenire difetti organolettici severi, come l'irrancidimento e lo sviluppo di sapori anomali durante i mesi di maturazione in magazzino (Stobiecka et al., 2022). Non va trascurato, inoltre, il forte valore nutraceutico di questo risultato. Trasferendo l'antiossidante dalla mangiatoia al latte, e di conseguenza al formaggio, si ottiene un prodotto finito nutrizionalmente più ricco, in grado di veicolare elementi benefici direttamente al consumatore finale (Stobiecka et al., 2022; Stobiecka et al., 2023). In sintesi, la strategia nutrizionale applicata in stalla non solo ha difeso la vacca dallo stress termico, ma si è tradotta in un netto miglioramento qualitativo e funzionale del prodotto destinato alla trasformazione.

Dinamiche dello Zinco nel plasma e nel latte

Con l'obiettivo di valutare, anche, il destino metabolico dell'integrazione, sono state monitorate le concentrazioni di zinco a livello ematico (Tabella 9).

TABELLA 9: Zinco plasmatico.

Zinco plasmatico, $\mu\text{mol/L}$	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
7	8.54	8.34	0.466	0.878
20	9.7	8.30	0.529	0.145
60	8.27	8.17	0.613	0.926
150	12.49	11.08	0.561	0.303

Andando a visionare i dati possiamo notare come le concentrazioni di zinco a livello ematico si mantengano sovrapponibili tra i due gruppi, senza mostrare differenze statisticamente significative ($P > 0.05$) in alcun giorno di lattazione. Il mancato incremento proporzionale nel plasma, a causa dell'elevato apporto dietetico nel gruppo trattato, si spiega attraverso i meccanismi omeostatici di assorbimento. Lo zinco in eccesso viene, infatti, assorbito a livello intestinale, ma rimane temporaneamente stoccato all'interno degli enterociti. Con la normale maturazione e il fisiologico sfaldamento dell'epitelio intestinale nel lume digerente, gran parte dello zinco trattenuto non raggiunge il torrente ematico, ma viene escreto con le feci (NASEM, 2021). Questo controllo a livello della barriera intestinale impedisce un accumulo sistemico e giustifica la parità dei valori plasmatici (Grešáková et al., 2021). L'integrazione massiccia può agire quindi come una riserva strategica e localizzata, utilizzabile dall'organismo in caso di necessità per coprire i fabbisogni durante i picchi di stress metabolico o termico, senza alterare l'omeostasi ematica.

Efficienza riproduttiva e tassi di concepimento

I rilievi ecografici effettuati per confermare i tassi di concepimento a fine prova ci hanno restituito una tendenza osservata tra i due gruppi. Nel gruppo trattato, ben 10 bovine su 12 (83.3%) hanno portato a termine con successo l'impianto embrionale, contro le sole 6 gravidanze confermate su 12 (50.0%) nel gruppo di controllo. A livello di analisi statistica, questo scostamento si traduce in un *P-value* pari a 0.083. Seppur di poco superiore alla soglia canonica dello 0.05, in ambito zootecnico e lavorando su piccoli gruppi, questo valore può rappresentare una buona tendenza statistica.

Ciononostante, a causa della ridotta numerosità campionaria ($n = 12$ capi per gruppo) e dell'analisi di svariate variabili all'interno dello studio, è metodologicamente

opportuno interpretare questo risultato con la dovuta cautela, tenendo in considerazione il rischio statistico intrinseco legato ai confronti multipli. Il dato suggerisce, pertanto, una chiara e promettente dinamica biologica più che una significatività statistica assoluta.

TABELLA 10: Rapporto parto – concepimento.

Parto-Concepimento, giorni	Trattato	Controllo	SEM	P-Value
	108.889	113.833	10.464	0.799

TABELLA 11: Numero di gravidanze.

Numero gravidanze, n/tot	Trattato	Controllo	P-Value
	10/12	6/12	0.0832

Per comprendere bene questo risultato è necessario osservare il livello cellulare. L'ipertermia estiva innesca un grande stress ossidativo, il quale colpisce inesorabilmente l'apparato riproduttore. Il grande quantitativo di radicali liberi (ROS) in circolazione crea un ambiente uterino letteralmente tossico, che finisce per danneggiare e distruggere l'embrione nei suoi primissimi giorni di sviluppo, causando i frequenti ritorni di calore che gli allevatori osservano in stalla nei mesi più caldi (De Rensis e Scaramuzzi, 2003).

Aver ottenuto quasi il doppio delle gravidanze nel gruppo sperimentale ci dimostra che l'alto dosaggio di antiossidanti ha agito in modo selettivo proprio su questo fronte. Neutralizzando i ROS prima che potessero attaccare i tessuti riproduttivi, la vitamina E e i microelementi hanno supportato l'apparato riproduttivo, offrendo all'embrione le condizioni ottimali per sopravvivere e impiantarsi (Pontes et al., 2015).

Occorre tuttavia contestualizzare questo dato sottolineando la gestione riproduttiva adottata nell'allevamento in prova. Questa era caratterizzata da un periodo di attesa volontaria (PAV) di 60 giorni e dall'impiego sistematico di protocolli ormonali per la sincronizzazione degli estri. Tali protocolli, standardizzando rigorosamente l'intervallo parto-prima fecondazione, rendono il tasso di concepimento per singola inseminazione (*Pregnancy per AI*) il parametro determinante per l'efficienza riproduttiva aziendale, riducendo la variabilità legata alla ripresa spontanea della ciclicità, la quale risulta

spesso compromessa nelle bovine ad alta produzione a causa dello stress ossidativo e metabolico (Spears e Weiss, 2008).

Questo esito, oltre a confermare l'approccio nutrizionale testato sul fronte del benessere animale, porta con sé un impatto economico di notevoli proporzioni per la gestione aziendale. Riuscire a ingravidare le vacche in piena estate è, storicamente, la sfida più ardua per l'allevatore di bovine da latte (De Rensis e Scaramuzzi, 2003; St-Pierre et al., 2003). Ogni gravidanza persa significa un inesorabile allungamento dei giorni aperti (i giorni parto-concepimento). Meno giorni aperti si traducono in vacche che tornano prima al picco di lattazione e in un minor tasso di riforma per infertilità.

In sintesi, avere una stalla piena di vacche gravide a fine estate significa garantire all'azienda un drastico taglio dei costi legati all'inefficienza riproduttiva, riducendo le spese per l'acquisto di dosi seme, i costi dei ri-trattamenti ormonali, il costo alimentare dei giorni vuoti improduttivi e l'incidenza di patologie metaboliche post-partum legate a un eccessivo ingrassamento da interparto prolungato, assicurando così una maggiore redditività per l'annata successiva.

Conclusioni

Il cambiamento climatico e i prolungati periodi di ipertermia minacciano severamente il benessere e la redditività delle bovine ad alta produzione, fondamentali per la filiera del Parmigiano Reggiano. Questo studio ha dimostrato come un'integrazione funzionale di vitamina E, selenio e zinco agisca da efficace scudo contro lo stress termico. Nelle bovine trattate, il maggiore DMI ha fornito l'energia vitale per la termoregolazione, scongiurando un profondo bilancio energetico negativo senza intaccare le riserve corporee. La strategia ha preservato la sanità mammaria e favorito un massiccio trasferimento di vitamina E nel latte, aumentandone sia il valore nutraceutico sia la stabilità ossidativa, parametro cruciale per le lunghe stagionature. A livello riproduttivo, l'abbattimento sistematico dei ROS ha protetto l'ambiente uterino, permettendo di raddoppiare i tassi di gravidanza e abbattendo i costi gestionali legati all'inefficienza riproduttiva. In conclusione, di fronte alle crescenti sfide climatiche, per garantire la sostenibilità economica e il benessere in stalla risulta oggi indispensabile abbracciare un approccio olistico, fondato anche su una nutrizione mirata e protettiva.

Bibliografia

1. Abeyrathne, Edirisinghe Dewage Nalaka Sandun, Kichang Nam, Xi Huang, e Dong Uk Ahn. «Plant- and Animal-Based Antioxidants' Structure, Efficacy, Mechanisms, and Applications: A Review». *Antioxidants* 11, fasc. 5 (2022): 1025. <https://doi.org/10.3390/antiox11051025>.
2. Abeyta, M. A., M. Al-Qaisi, E. A. Horst, et al. «Effects of Dietary Antioxidant Supplementation on Metabolism and Inflammatory Biomarkers in Heat-Stressed Dairy Cows». *Journal of Dairy Science* 106, fasc. 2 (2023): 1441–52. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22338>.
3. Ahmadi, Farhad, Hafiz A. R. Suleria, e Frank R. Dunshea. «Role of Plant Bioactive Compounds in Improving Ruminant Resilience to Heat Stress Challenge». *Animal Production Science* 65, fasc. 6 (2025): AN23386. <https://doi.org/10.1071/AN23386>.
4. Alberghina, Daniela, Annalisa Amato, Giacomina Brancato, Carmelo Cavallo, Luigi Liotta, e Vincenzo Lopreiato. «Impact of Heat Stress on the Balance between Oxidative Markers and the Antioxidant Defence System in the Plasma of Mid-Lactating Modicana Dairy Cows». *Animals* 14, fasc. 14 (2024): 2034. <https://doi.org/10.3390/ani14142034>.
5. Aydoğdu, Gökçe Sueda, e Makbule Gezmen Karadağ. «The Two Dimensions of Nutrition for the Planet: Environment and Health». *Current Nutrition Reports* 14, fasc. 1 (2025): 49. <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00642-3>.
6. Ayemele, Aurele Gnetegha, Mekonnen Tilahun, Sun Lingling, et al. «Oxidative Stress in Dairy Cows: Insights into the Mechanistic Mode of Actions and Mitigating Strategies». *Antioxidants* 10, fasc. 12 (2021): 1918. <https://doi.org/10.3390/antiox10121918>.
7. Balkan, Burcu Menekse, Ogunc Meral, Bekir Cetintav, Hidayet Tutun, Guzin Ozkurt, e Tevhide Sel. «The Effects of Storage Conditions and Homogenisation Buffers on the Measurement of SOD, CAT and ADA Enzyme Activities in Cattle Liver». *Veterinary Medicine and Science* 11, fasc. 4 (2025): e70418. <https://doi.org/10.1002/vms3.70418>.
8. Baumgard, Lance H., e Robert P. Rhoads. «Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics». *Annual Review of Animal Biosciences* 1, fasc. 1 (2013): 311–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103644>.

9. Bernabucci, U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, R. P. Rhoads, B. Ronchi, e A. Nardone. «Metabolic and Hormonal Acclimation to Heat Stress in Domesticated Ruminants». *Animal* 4, fasc. 7 (2010): 1167–83. <https://doi.org/10.1017/S175173111000090X>.
10. Bordignon, Francesco, Giorgio Provolo, Elisabetta Riva, et al. «Smart Technologies to Improve the Management and Resilience to Climate Change of Livestock Housing: A Systematic and Critical Review». *Italian Journal of Animal Science* 24, fasc. 1 (2025): 376–92. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2025.2455500>.
11. Calvin, Katherine, Dipak Dasgupta, Gerhard Krinner, et al. *IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (Eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland*. First. A cura di Paola Arias, Mercedes Bustamante, Ismail Elgizouli, et al. Con un contributo di Hoesung Lee. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2023. <https://doi.org/10.59327/IPCC/AR6-9789291691647>.
12. Celi, Pietro. «Biomarkers of Oxidative Stress in Ruminant Medicine». *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 33, fasc. 2 (2011): 233–40. <https://doi.org/10.3109/08923973.2010.514917>.
13. Chauhan, Surinder S., V. P. Rashamol, M. Bagath, Veerasamy Sejian, e Frank R. Dunshea. «Impacts of Heat Stress on Immune Responses and Oxidative Stress in Farm Animals and Nutritional Strategies for Amelioration». *International Journal of Biometeorology* 65, fasc. 7 (2021): 1231–44. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02083-3>.
14. Chen, L., V. M. Thorup, A. B. Kudahl, e S. Østergaard. «Effects of Heat Stress on Feed Intake, Milk Yield, Milk Composition, and Feed Efficiency in Dairy Cows: A Meta-Analysis». *Journal of Dairy Science* 107, fasc. 5 (2024): 3207–18. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24059>.
15. Chen, Yi-Hsuan, Yi-Ming Chen, Po-An Tu, Kuo-Hua Lee, Jih-Yi Chen, e Jih-Tay Hsu. «Effect of Supplementing Vitamin E, Selenium, Copper, Zinc, and Manganese during the Transition Period on Dairy Cow Reproductive Performance and Immune Function». *Veterinary Sciences* 10, fasc. 3 (2023): 225. <https://doi.org/10.3390/vetsci10030225>.
16. Ciampi, F., L. M. Sordillo, J. C. Gandy, et al. «Evaluation of Natural Plant Extracts as Antioxidants in a Bovine in Vitro Model of Oxidative Stress». *Journal*

of *Dairy Science* 103, fasc. 10 (2020): 8938–47.
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18182>.

17. Coleman, Danielle N., Vincenzo Lopreiato, Abdulrahman Alharthi, e Juan J. Loo. «Amino Acids and the Regulation of Oxidative Stress and Immune Function in Dairy Cattle». *Journal of Animal Science* 98, fasc. Supplement_1 (2020): S175–93. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa138>.
18. Committee on Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies, e National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition*. National Academies Press, 2021.
<https://doi.org/10.17226/25806>.
19. Danesh Mesgaran, Mohsen, Hassan Kargar, Rieke Janssen, Sadjad Danesh Mesgaran, Aghil Ghesmati, e Amirmansour Vatankhah. «Rumen-Protected Zinc–Methionine Dietary Inclusion Alters Dairy Cow Performances, and Oxidative and Inflammatory Status under Long-Term Environmental Heat Stress». *Frontiers in Veterinary Science* 9 (settembre 2022): 935939.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.935939>.
20. De Ondarza, M. B., e J. M. Tricarico. «Nutritional Contributions and Non-CO2 Greenhouse Gas Emissions from Human-Inedible Byproduct Feeds Consumed by Dairy Cows in the United States». *Journal of Cleaner Production* 315 (settembre 2021): 128125. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128125>.
21. Ding, Yixuan, Rui Sun, Xuejie Jiang, et al. «Combined Vitamin E and Selenium Supplementation Enhances Antioxidant Status, Reduces Disease Incidence, and Improves Economic Returns in Transition Dairy Cows». *Veterinary World*, agosto 2025, 2439–49. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.2439-2449>.
22. Dos Santos, Mateus Medeiros, João Batista Freire Souza-Junior, Maiko Roberto Tavares Dantas, e Leonardo Lelis De Macedo Costa. «An Updated Review on Cattle Thermoregulation: Physiological Responses, Biophysical Mechanisms, and Heat Stress Alleviation Pathways». *Environmental Science and Pollution Research* 28, fasc. 24 (2021): 30471–85.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14077-0>.
23. Du, Dewei, Lei Feng, Peng Chen, et al. «Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* Cultures on Performance and Immune Performance of Dairy Cows During Heat Stress». *Frontiers in Veterinary Science* 9 (marzo 2022): 851184.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.851184>.

24. Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, e G. Webster. «A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows». *Journal of Dairy Science* 72, fasc. 1 (1989): 68–78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0).
25. Focant, M., E. Mignolet, M. Marique, et al. «The Effect of Vitamin E Supplementation of Cow Diets Containing Rapeseed and Linseed on the Prevention of Milk Fat Oxidation». *Journal of Dairy Science* 81, fasc. 4 (1998): 1095–101. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75671-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75671-1).
26. Gantner, Vesna, Pero Mijić, Krešimir Kuterovac, Drago Solić, e Ranko Gantner. *Temperature-Humidity Index Values and Their Significance on the Daily Production of Dairy Cattle*. s.d.
27. Gauly, M., e S. Ammer. «Review: Challenges for Dairy Cow Production Systems Arising from Climate Changes». *Animal* 14 (2020): s196–203. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003239>.
28. Gauly, M., H. Bollwein, G. Breves, et al. «Future Consequences and Challenges for Dairy Cow Production Systems Arising from Climate Change in Central Europe – a Review». *Animal* 7, fasc. 5 (2013): 843–59. <https://doi.org/10.1017/S1751731112002352>.
29. Gerber, Pierre J. e Food and Agriculture Organization of the United Nations, a c. di. *Tackling Climate Change through Livestock: A Global Assessment of Emissions and Mitigation Opportunities*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013.
30. Giannone, Claudia, Marco Bovo, Mattia Ceccarelli, Daniele Torreggiani, e Patrizia Tassinari. «Review of the Heat Stress-Induced Responses in Dairy Cattle». *Animals* 13, fasc. 22 (2023): 3451. <https://doi.org/10.3390/ani13223451>.
31. Grešáková, Ľubomíra, Katarína Tokarčíková, e Klaudia Čobanová. «Bioavailability of Dietary Zinc Sources and Their Effect on Mineral and Antioxidant Status in Lambs». *Agriculture* 11, fasc. 11 (2021): 1093. <https://doi.org/10.3390/agriculture11111093>.
32. Guo, Yongmei, Li Li, Sumei Yan, e Binlin Shi. «Plant Extracts to Alleviating Heat Stress in Dairy Cows». *Animals* 13, fasc. 18 (2023): 2831. <https://doi.org/10.3390/ani13182831>.

33. Guo, Zitai, Shengtao Gao, Jialiang Ouyang, Lu Ma, e Dengpan Bu. «Impacts of Heat Stress-Induced Oxidative Stress on the Milk Protein Biosynthesis of Dairy Cows». *Animals* 11, fasc. 3 (2021): 726. <https://doi.org/10.3390/ani11030726>.
34. Gupta, Shruti, Arvind Sharma, Aleena Joy, Frank Rowland Dunshea, e Surinder Singh Chauhan. «The Impact of Heat Stress on Immune Status of Dairy Cattle and Strategies to Ameliorate the Negative Effects». *Animals* 13, fasc. 1 (2022): 107. <https://doi.org/10.3390/ani13010107>.
35. Haga, Satoshi, Hiroshi Ishizaki, e Sanggun Roh. «The Physiological Roles of Vitamin E and Hypovitaminosis E in the Transition Period of High-Yielding Dairy Cows». *Animals* 11, fasc. 4 (2021): 1088. <https://doi.org/10.3390/ani11041088>.
36. Haga, Satoshi, Hiroshi Ishizaki, e Sanggun Roh. «The Physiological Roles of Vitamin E and Hypovitaminosis E in the Transition Period of High-Yielding Dairy Cows». *Animals* 11, fasc. 4 (2021): 1088. <https://doi.org/10.3390/ani11041088>.
37. Hansen, P. J. «Exploitation of Genetic and Physiological Determinants of Embryonic Resistance to Elevated Temperature to Improve Embryonic Survival in Dairy Cattle during Heat Stress». *Theriogenology* 68 (settembre 2007): S242–49. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.008>.
38. Hao, Yu, Xuejie Jiang, Rui Sun, et al. «Effects of Supplementing Rumen-Protected Glutathione on Lactation Performance, Nutrients, Oxidative Stress, Inflammation, and Health in Dairy Cows During the Transition Period». *Veterinary Sciences* 12, fasc. 2 (2025): 84. <https://doi.org/10.3390/vetsci12020084>.
39. Henchion, M., A. P. Moloney, J. Hyland, J. Zimmermann, e S. McCarthy. «Review: Trends for Meat, Milk and Egg Consumption for the next Decades and the Role Played by Livestock Systems in the Global Production of Proteins». *Animal* 15 (dicembre 2021): 100287. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100287>.
40. Ineichen, S. M., J. Zumwald, B. Reidy, e T. Nemecek. «Feed-Food and Land Use Competition of Lowland and Mountain Dairy Cow Farms». *Animal* 17, fasc. 12 (2023): 101028. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.101028>.
41. Khan, Adnan, Muhammad Zahoor Khan, Jinhuan Dou, et al. «SOD1 Gene Silencing Promotes Apoptosis and Suppresses Proliferation of Heat-Stressed Bovine Granulosa Cells via Induction of Oxidative Stress». *Veterinary Sciences* 8, fasc. 12 (2021): 326. <https://doi.org/10.3390/vetsci8120326>.

42. Kim, Tae-Bin, Jae-Sung Lee, Seung-Yeol Cho, e Hong-Gu Lee. «In Vitro and In Vivo Studies of Rumen-Protected Microencapsulated Supplement Comprising Linseed Oil, Vitamin E, Rosemary Extract, and Hydrogenated Palm Oil on Rumen Fermentation, Physiological Profile, Milk Yield, and Milk Composition in Dairy Cows». *Animals* 10, fasc. 9 (2020): 1631. <https://doi.org/10.3390/ani10091631>.
43. Koneswaran, Gowri, e Danielle Nierenberg. «Global Farm Animal Production and Global Warming: Impacting and Mitigating Climate Change». *Environmental Health Perspectives* 116, fasc. 5 (2008): 578–82. <https://doi.org/10.1289/ehp.11034>.
44. Kuhn, Matthew J. «Review: The Potential Role of Vitamin E Analogs as Adjunctive Antioxidant Supplements for Transition Cows». *Dairy* 4, fasc. 2 (2023): 285–99. <https://doi.org/10.3390/dairy4020020>.
45. Laliotis, George P., Panagiota Koutsouli, Kyriaki Sotirakoglou, Giovanni Savoini, e Ioannis Politis. «Association of Oxidative Stress Biomarkers and Clinical Mastitis Incidence in Dairy Cows during the Periparturient Period». *Journal of Veterinary Research* 64, fasc. 3 (2020): 421–25. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0053>.
46. Li, Xue, Jianfei Wang, Maocheng Jiang, Yongjiu Huo, e Kang Zhan. «Effects of Zinc (Zn) from Different Sources on Production Performance, Health Status, Antioxidant Properties and Immune Regulation of Dairy Cows in Early Lactation». *Veterinary Sciences* 12, fasc. 6 (2025): 545. <https://doi.org/10.3390/vetsci12060545>.
47. Ma, F. T., Q. Shan, Y. H. Jin, et al. «Effect of Lonicera Japonica Extract on Lactation Performance, Antioxidant Status, and Endocrine and Immune Function in Heat-Stressed Mid-Lactation Dairy Cows». *Journal of Dairy Science* 103, fasc. 11 (2020): 10074–82. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18504>.
48. Magro, Silvia, Angela Costa, e Massimo De Marchi. «Total and Differential Somatic Cell Count in Italian Local Cattle Breeds: Phenotypic Variability and Effect on Milk Yield and Composition». *Animals* 13, fasc. 7 (2023): 1249. <https://doi.org/10.3390/ani13071249>.
49. Mbuthia, Jackson M., Anja Eggert, e Norbert Reinsch. «Cooling Temperature Humidity Index-Days as a Heat Load Indicator for Milk Production Traits». *Frontiers in Animal Science* 3 (luglio 2022): 946592. <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.946592>.

50. Mion, Bruna, Lori Ogilvie, Bryn Van Winters, et al. «Effects of Replacing Inorganic Salts of Trace Minerals with Organic Trace Minerals in the Pre- and Postpartum Diets on Mineral Status, Antioxidant Biomarkers, and Health of Dairy Cows». *Journal of Animal Science* 101 (gennaio 2023): skad041. <https://doi.org/10.1093/jas/skad041>.
51. Misztal, Ignacy, Luiz F. Brito, e Daniela Lourenco. «Breeding for Improved Heat Tolerance in Dairy Cattle: Methods, Challenges, and Progress». *JDS Communications* 6, fasc. 3 (2025): 464–68. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2024-0651>.
52. Molotoks, Amy, Pete Smith, e Terence P. Dawson. «Impacts of Land Use, Population, and Climate Change on Global Food Security». *Food and Energy Security* 10, fasc. 1 (2021): e261. <https://doi.org/10.1002/fes3.261>.
53. Moore, S. Sterup, A. Costa, M. Penasa, S. Callegaro, e M. De Marchi. «How Heat Stress Conditions Affect Milk Yield, Composition, and Price in Italian Holstein Herds». *Journal of Dairy Science* 106, fasc. 6 (2023): 4042–58. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22640>.
54. Negasa, Jiregna Gari. «Dietary Plant Flavonoid Supplementation for Poultry as a Potent Scavenger of Hydroxyl Radicals and Antioxidants: A Review». *PeerJ Organic Chemistry* 6 (marzo 2024): e9. <https://doi.org/10.7717/peerj-ochem.9>.
55. Oconitrillo, Maria, Janaka Wickramasinghe, Shedrack Omale, Donald Beitz, e Ranga Appuhamy. «Effects of Elevating Zinc Supplementation on the Health and Production Parameters of High-Producing Dairy Cows». *Animals* 14, fasc. 3 (2024): 395. <https://doi.org/10.3390/ani14030395>.
56. Pasciu, Valeria, Maria Nieddu, Francesca Daniela Sotgiu, Elena Baralla, e Fiammetta Berlinguer. «An Overview on Assay Methods to Quantify ROS and Enzymatic Antioxidants in Erythrocytes and Spermatozoa of Small Domestic Ruminants». *Animals* 13, fasc. 14 (2023): 2300. <https://doi.org/10.3390/ani13142300>.
57. Polsky, Liam, e Marina A. G. Von Keyserlingk. «Invited Review: Effects of Heat Stress on Dairy Cattle Welfare». *Journal of Dairy Science* 100, fasc. 11 (2017): 8645–57. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12651>.
58. Ponnampalam, Eric N., Ali Kiani, Sarusha Santhiravel, Benjamin W. B. Holman, Charlotte Lauridsen, e Frank R. Dunshea. «The Importance of Dietary Antioxidants on Oxidative Stress, Meat and Milk Production, and Their Preservative Aspects in Farm Animals: Antioxidant Action, Animal Health, and

Product Quality—Invited Review». *Animals* 12, fasc. 23 (2022): 3279. <https://doi.org/10.3390/ani12233279>.

59. Pontes, G. C. S., P. L. J. Monteiro, A. B. Prata, et al. «Effect of Injectable Vitamin E on Incidence of Retained Fetal Membranes and Reproductive Performance of Dairy Cows». *Journal of Dairy Science* 98, fasc. 4 (2015): 2437–49. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8886>.
60. Renaudeau, D., A. Collin, S. Yahav, V. De Bascilio, J. L. Gourdière, e R. J. Collier. «Adaptation to Hot Climate and Strategies to Alleviate Heat Stress in Livestock Production». *Animal* 6, fasc. 5 (2012): 707–28. <https://doi.org/10.1017/S1751731111002448>.
61. Rensis, Fabio De, e Rex John Scaramuzzi. «Heat Stress and Seasonal Effects on Reproduction in the Dairy Cow—a Review». *Theriogenology* 60, fasc. 6 (2003): 1139–51. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00126-2).
62. Ruiz-González, A., W. Suissi, L. H. Baumgard, et al. «Increased Dietary Vitamin D3 and Calcium Partially Alleviate Heat Stress Symptoms and Inflammation in Lactating Holstein Cows Independent of Dietary Concentrations of Vitamin E and Selenium». *Journal of Dairy Science* 106, fasc. 6 (2023): 3984–4001. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22345>.
63. Sammad, Abdul, Saqib Umer, Rui Shi, Huabin Zhu, Xueming Zhao, e Yachun Wang. «Dairy Cow Reproduction under the Influence of Heat Stress». *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104, fasc. 4 (2020): 978–86. <https://doi.org/10.1111/jpn.13257>.
64. Segnalini, M., U. Bernabucci, A. Vitali, A. Nardone, e N. Lacetera. «Temperature Humidity Index Scenarios in the Mediterranean Basin». *International Journal of Biometeorology* 57, fasc. 3 (2013): 451–58. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0571-5>.
65. Shan, Q., F. T. Ma, Y. H. Jin, D. Gao, H. Y. Li, e P. Sun. «Chromium Yeast Alleviates Heat Stress by Improving Antioxidant and Immune Function in Holstein Mid-Lactation Dairy Cows». *Animal Feed Science and Technology* 269 (novembre 2020): 114635. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114635>.
66. Soldado, David, Rui J. B. Bessa, e Eliana Jerónimo. «Condensed Tannins as Antioxidants in Ruminants—Effectiveness and Action Mechanisms to Improve Animal Antioxidant Status and Oxidative Stability of Products». *Animals* 11, fasc. 11 (2021): 3243. <https://doi.org/10.3390/ani11113243>.

67. Spears, Jerry W., e William P. Weiss. «Role of Antioxidants and Trace Elements in Health and Immunity of Transition Dairy Cows». *The Veterinary Journal* 176, fasc. 1 (2008): 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.015>.
68. Stingelin, Luciano Adnauer, Carlos Eduardo Schell, Maila Palmeira, et al. «Metabolic and Productive Parameters of Lactating Dairy Cows under Heat Stress Conditions Supplemented with Plant Polyphenol Extract». *Tropical Animal Health and Production* 56, fasc. 5 (2024): 176. <https://doi.org/10.1007/s11250-024-04031-w>.
69. Stobiecka, Magdalena, Jolanta Król, e Aneta Brodziak. «Antioxidant Activity of Milk and Dairy Products». *Animals* 12, fasc. 3 (2022): 245. <https://doi.org/10.3390/ani12030245>.
70. Stobiecka, Magdalena, Jolanta Król, Aneta Brodziak, Renata Klebaniuk, e Edyta Kowalczyk-Vasilev. «Effects of Supplementation with an Herbal Mixture on the Antioxidant Capacity of Milk». *Animals* 13, fasc. 12 (2023): 2013. <https://doi.org/10.3390/ani13122013>.
71. St-Pierre, N. R., B. Cobanov, e G. Schnitkey. «Economic Losses from Heat Stress by US Livestock Industries». *Journal of Dairy Science* 86 (giugno 2003): E52–77. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74040-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74040-5).
72. Su, Xiu, Pengyu Huang, Yuanyin Guo, e Jie Cao. «Zeolite for Preventing Periparturient Hypocalcemia in Dairy Cows: Mechanisms and Application Strategies». *Frontiers in Veterinary Science* 12 (agosto 2025): 1635245. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1635245>.
73. Tao, Sha, Ruth M. Orellana Rivas, Thiago N. Marins, Yun-Chu Chen, Jing Gao, e John K. Bernard. «Impact of Heat Stress on Lactational Performance of Dairy Cows». *Theriogenology* 150 (luglio 2020): 437–44. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.048>.
74. Tufarelli, Vincenzo, Maria Antonietta Colonna, Caterina Losacco, e Nikola Puvača. «Biological Health Markers Associated with Oxidative Stress in Dairy Cows during Lactation Period». *Metabolites* 13, fasc. 3 (2023): 405. <https://doi.org/10.3390/metabo13030405>.
75. VanderZaag, Andrew, Etienne Le Riche, Budong Qian, et al. «Trends in the Risk of Heat Stress to Canadian Dairy Cattle in a Changing Climate». *Canadian Journal of Animal Science* 104, fasc. 1 (2024): 11–25. <https://doi.org/10.1139/cjas-2023-0040>.

76. Walther, Barbara, Dominik Guggisberg, René Badertscher, et al. «Comparison of Nutritional Composition between Plant-Based Drinks and Cow's Milk». *Frontiers in Nutrition* 9 (ottobre 2022): 988707. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.988707>.
77. Wang, Beiyao, Xinlin Li, Zimo Zhou, Yanqiu Zhu, Zhicai Zuo, e Hongrui Guo. «The Role of Five Key Minerals (Cu, Se, Zn, Co, Fe) in Reproductive Function of Female Cattle: Current Insights and Future Directions». *Veterinary Sciences* 13, fasc. 2 (2026): 208. <https://doi.org/10.3390/vetsci13020208>.
78. West, J. W. «Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle». *Journal of Dairy Science* 86, fasc. 6 (2003): 2131–44. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X).
79. Xiao, Jianxin, Muhammad Zahoor Khan, Yulin Ma, et al. «The Antioxidant Properties of Selenium and Vitamin E; Their Role in Periparturient Dairy Cattle Health Regulation». *Antioxidants* 10, fasc. 10 (2021): 1555. <https://doi.org/10.3390/antiox10101555>.
80. Yan, Geqi, Zhengxiang Shi, e Hao Li. «Critical Temperature-Humidity Index Thresholds Based on Surface Temperature for Lactating Dairy Cows in a Temperate Climate». *Agriculture* 11, fasc. 10 (2021): 970. <https://doi.org/10.3390/agriculture11100970>.
81. Zachut, Maya, Marcela Šperanda, André M. De Almeida, Gianfranco Gabai, Ali Mobasher, e Lorenzo E. Hernández-Castellano. «Biomarkers of Fitness and Welfare in Dairy Cattle: Healthy Productivity». *Journal of Dairy Research* 87, fasc. 1 (2020): 4–13. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000084>.
82. Zeng, Yan, Enhui Chen, Xuewen Zhang, Demao Li, Qinhong Wang, e Yuanxia Sun. «Nutritional Value and Physicochemical Characteristics of Alternative Protein for Meat and Dairy—A Review». *Foods* 11, fasc. 21 (2022): 3326. <https://doi.org/10.3390/foods11213326>.
83. Zhang, Qiang, Lulu Yang, Yunhan Li, et al. «Heat Stress Affects Dairy Cow Performance via Oxidative Stress, Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis, Gut Microbiota, and Multi-Dimensional Mitigation». *Frontiers in Veterinary Science* 12 (ottobre 2025): 1686241. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1686241>.
84. Zheng, Sen, Guixin Qin, Yuguo Zhen, et al. «Correlation of Oxidative Stress-related Indicators with Milk Composition and Metabolites in Early Lactating Dairy Cows». *Veterinary Medicine and Science* 7, fasc. 6 (2021): 2250–59. <https://doi.org/10.1002/vms3.615>.

85. Zhou, Jia, Sungming Yue, Benchu Xue, et al. «Effect of Hyperthermia on Cell Viability, Amino Acid Transfer, and Milk Protein Synthesis in Bovine Mammary Epithelial Cells». *Journal of Animal Science and Technology* 64, fasc. 1 (2022): 110–22. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e128>.