

## **Integrazione con aminoacidi di sintesi in diete ipoproteiche: prove di crescita e bilancio azotato**

**Masoero G.<sup>1</sup>, Miniscalco B.<sup>2</sup>, Mattioda R.<sup>2</sup>, Chicco R.<sup>1</sup>, Solomita M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>CRA-PCM, Torino, Italy.

<sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Animale, Università di Torino, Italy

*Corresponding Author:* Giorgio Masoero, CRA-PCM, Via Pianezza 115, 10151 Torino, Italy - Tel. +39 347 5463061 - Email: giorgio\_masoero@alice.it

**ABSTRACT: Low protein integrated by synthetic aminoacids diets for young rabbits: growth and nitrogen balance trials.** A four-factorial Taguchi design was conceived to estimate effects of addition to zero-basal diet (#1, crude protein 16.7%DM) of 4 AA unilevel; in order the 4 factors were: A:Metionine, B:Lysine C = A\*B (Threonine); D = Thryptophan. Nine diets (#1-9) were fed to 18 rabbits in metabolism cages from 40 to 68 d; each week the 9 diets were rotated by rabbits, so 8 records were available for each diet (n=72). Data from growth records enhanced significant positive effects on growth rate (+22%) accounted by Triptophane (added at 50g/t) also interacting with Metionine (50g/t). No effect was apparent in urine volume or in apparent digestibility. A second trial compared 9 rabbits fed diet #9 (M) (Mini-nitrogen with added 4 AA) vs. 9 rabbits fed by a normal protein diet (C, Control: crude protein 18.8%). The limited protein level (M vs. C) did not reduce urine volume and depressed the digestive and metabolic utilisation of the protein, a result which need further investigation.

**Key Words:** Rabbit, Taguchi design, Aminoacids, Growth, Nitrogen balance.

**INTRODUZIONE** – Nonostante l'intensa attività microbica intestinale, il coniglio necessita di 10 aminoacidi (AA) essenziali (Adamson e Fisher, 1973) tra cui 4 sintetici sono ora disponibili per l'industria mangimistica. Numerose prove alimentari hanno determinato il livello critico per la funzionalità intestinale, in rapporto all'energia del mangime (Trocino *et al.*, 2000; Cherubini *et al.*, 2008); oltre il limite di 12 (g/MJ) proteina/energia digeribile il rischio di mortalità si può innalzare ben oltre il valore medio, che si aggira in Francia sul 7-9% (Lebas, 2010).

**MATERIALI E METODI** – Un disegno sperimentale quadrifattoriale secondo Taguchi (1991) è stato impiegato per valutare l'effetto dell'addizione dei 4 AA sintetici con unico livello ad una dieta-base (#1, proteina grezza 16,7%SS); nell'ordine i 4 fattori (Tabella 1) erano: A: Metionina, B: Lisina, C = A\*B (Treonine); D = Triptofano. Nove diete (#1-9, Tabella 2) sono state somministrate a 18 conigli posti in gabbie metaboliche, da 40 a 68 d; le 9 diete sperimentali sono state permutate settimanalmente e ciò ha permesso di ottenere 8 dati/settimana per ciascuna dieta (n=72). Il volume urinario delle 24h si è determinato il venerdì, mentre le feci sono state raccolte e trattate secondo la metodica armonizzata europea citata in Masoero *et al* (2008). In una prova successiva (n=18) della durata di una settimana sono state poste a confronto la dieta #9 (M: Ipoproteica formulata con tutti i suddetti AA di sintesi) e una dieta contenente standard (C, proteina grezza 18,8%). I dati sono stati elaborati con il SAS.

**Tabella 1** – Disegno sperimentale, quadri-fattoriale secondo Taguchi (1991).

|       | DL-Met<br>Metionina | L-Lys -<br>Lisina | L-Tre<br>Treonina | L-Try<br>Tryptofano | Interazioni |    |     |
|-------|---------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------|----|-----|
| Dieta | A                   | B                 | C(AB)             | D                   | AD          | BD | ABD |
| 1     | 0                   | 0                 | 0                 | 0                   | 0           | 0  | 0   |
| 2     | 0                   | 0                 | 0                 | 1                   | 1           | 1  | 1   |
| 3     | 0                   | 1                 | 1                 | 0                   | 0           | 1  | 1   |
| 4     | 0                   | 1                 | 1                 | 1                   | 1           | 0  | 0   |
| 5     | 1                   | 0                 | 1                 | 0                   | 1           | 0  | 1   |
| 6     | 1                   | 0                 | 1                 | 1                   | 0           | 1  | 0   |
| 7     | 1                   | 1                 | 0                 | 0                   | 1           | 1  | 0   |
| 8     | 1                   | 1                 | 0                 | 1                   | 0           | 0  | 1   |
| 9-M   | 1                   | 1                 | 1                 | 1                   | 0           | 0  | 1   |

**Tabella 2** – Composizione delle diete, integrazione con AA e composizione chimica.

| Ingredienti (%)                       | C     | 9M    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Cruschello di grano                   | 20,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  | 23,0  |
| Medica dis, 17/27                     | 12,0  | 22,2  | 22,20 | 22,2  | 22,2  | 22,2  | 22,2  | 22,2  | 22,2  | 22,2  |
| Polpe di bietole                      | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  | 17,0  |
| Girasole f.e.                         | 22,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  | 15,0  |
| Mais ibrido                           | 10,0  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  | 9,70  |
| Orzo                                  | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   | 5,0   |
| Paglia                                | 5,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   | 3,0   |
| Soia f.e.                             | 4,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| Melasso                               | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   | 2,0   |
| Calcio carbonato                      | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   | 1,5   |
| Integrat. vitaminico                  | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   |
| Fosfato bicalcico                     | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   | 0,5   |
| NaCl                                  | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   | 0,3   |
| Metionina                             | 0,05  | 0,05  | -     | -     | -     | -     | 0,05  | 0,05  | 0,05  | 0,05  |
| Lisina                                | 0,15  | 0,15  | -     | -     | 0,15  | 0,15  | -     | -     | 0,15  | 0,15  |
| Treonina                              | -     | 0,05  | -     | -     | 0,05  | 0,05  | 0,05  | 0,05  | -     | -     |
| Tryptofano                            | -     | 0,05  | -     | 0,05  | -     | 0,05  | -     | 0,05  | -     | 0,05  |
| <i>Composizione chimica calcolata</i> |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| Proteina grezza (%)                   | 18,79 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 | 16,72 |
| Estratto etero (%)                    | 2,73  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  | 2,98  |
| Fibra grezza (%)                      | 18,70 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 | 18,84 |
| Ceneri %                              | 8,34  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  | 8,72  |
| NDF %                                 | 37,69 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 | 38,72 |
| ADF %                                 | 21,23 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 | 21,64 |
| ADL %                                 | 4,66  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  | 4,67  |
| Amido (%)                             | 14,93 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 | 14,94 |
| Energia dig. (MJ/kg)                  | 11,49 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 | 11,51 |
| Metionina (g/kg)                      | 3,788 | 3,33  | 2,83  | 2,8   | 2,8   | 2,8   | 3,3   | 3,3   | 3,3   | 3,3   |
| Lisina (g/kg)                         | 8,676 | 7,84  | 6,34  | 6,3   | 7,8   | 7,8   | 6,3   | 6,3   | 7,8   | 7,8   |
| Treonina (g/kg)                       | 6,546 | 6,41  | 5,91  | 5,9   | 6,4   | 6,4   | 6,4   | 6,4   | 5,9   | 5,9   |
| Tryptofano (g/kg)                     | 2,338 | 2,65  | 2,15  | 2,6   | 2,1   | 2,6   | 2,1   | 2,6   | 2,1   | 2,6   |
| AA solforati (g/kg)                   | 6,663 | 6,35  | 5,35  | 5,3   | 5,3   | 5,3   | 5,8   | 5,8   | 5,8   | 5,8   |

**RISULTATI E CONCLUSIONI** – I dati di crescita hanno evidenziato un significativo effetto da parte del Tryptofano (+50g/t; 2,6% vs 2,1%) che ha determinato un incremento medio giornaliero di 39,1 vs. 32,7 g/d (+22%,  $P=0,025$ , Tabella 3) evidenziando nel contempo un effetto sinergico ( $P=0,011$ ) con la Metionina (+50g/t). Adamson e Fisher già nel 1973 dimostrarono che Tryptofano riveste un ruolo preminente, con effetti da carenza ma senza difetti da eccessi. Al contrario emissione urinaria e utilizzazione digestiva e metabolica non sono state modificate. Nella seconda

prova, la dieta a ridotto livello proteico ridotto (M) non ha consentito di limitare la produzione di urine e ha peggiorato fortemente l'utilizzazione digestiva e metabolica dell'azoto (Tabella 4) in accordo con quanto osservato in precedenza (Masoero *et al.*, 2008). In sostanza la prova metabolica non pare corroborare le favorevoli acquisizioni di allevamento, realizzate in condizioni di maggiore rischio ambientale e meriterebbe approfondimenti ulteriori.

**Tabella 3** – Prima prova: performances, digeribilità, urina: effetti e significatività.

| Fattori | A.A.                  | Peso vivo | IMG <sup>1</sup> | CMG <sup>2</sup> | Peso feci | CUDA SS | CUDA PG | Urina |
|---------|-----------------------|-----------|------------------|------------------|-----------|---------|---------|-------|
| (n=52)  | R <sup>2</sup> --->>> | 0,03      | 0,20             | 0,03             | 0,11      | 0,07    | 0,04    | 0,02  |
| A       | Met                   | 0,880     | 0,32             | 0,87             | 0,36      | 0,29    | 0,74    | 0,88  |
| B       | Lys                   | 0,814     | 0,64             | 0,91             | 0,54      | 0,74    | 0,25    | 0,86  |
| (C)AB   | (Tre) (Met*Lys)       | 0,205     | 0,78             | 0,46             | 0,51      | 0,62    | 0,86    | 0,88  |
| D       | Tri                   | 0,938     | <b>0,02</b>      | 0,81             | 0,97      | 0,57    | 0,64    | 0,74  |
| AD      | Met-Tri               | 0,623     | <b>0,01</b>      | 0,76             | 0,07      | 0,15    | 0,85    | 0,71  |
| BD      | Lys-Tri               | 0,925     | 0,29             | 0,54             | 0,68      | 0,54    | 0,79    | 0,26  |
| ABD     | Met-Lys-Tri           | 0,730     | 0,63             | 0,34             | 0,26      | 0,81    | 0,33    | 0,75  |

<sup>1</sup>IMG: Incremento Medio Giornaliero; <sup>2</sup>CMG: Consumo Medio Giornaliero.

**Tabella 4** – Seconda prova in gabbia metabolica (n=18) (a,b=P<0,05).

| Variabili                            | R <sup>2</sup> | MSE   | Prob | Dieta-C | Dieta-M |
|--------------------------------------|----------------|-------|------|---------|---------|
| Accrescimento Medio Giornaliero, g/d | 0,01           | 18,8  | 0,67 | 47,92   | 51,67   |
| Consumo Medio Giornaliero, g/d       | 0,01           | 35,6  | 0,62 | 185,4   | 193,7   |
| Indice di Consumo, g/g               | 0,00           | 1,45  | 0,96 | 4,22    | 4,25    |
| Urina, g/d                           | 0,09           | 134,8 | 0,24 | 273     | 350     |
| Creatinina, mg/dl                    | 0,01           | 6,83  | 0,68 | 24,07   | 22,72   |
| CUD_ PG                              | 0,31           | 0,069 | 0,01 | 0,72a   | 0,63b   |
| Azoto ingerito, g/d                  | 0,04           | 0,897 | 0,42 | 4,91    | 4,56    |
| Azoto fecale, g/d                    | 0,09           | 0,48  | 0,21 | 1,40    | 1,69    |
| Azoto Ureico Urinario, g/d           | 0,00           | 0,346 | 0,98 | 0,97    | 0,98    |
| Azoto Ritenuto, g/d                  | 0,24           | 0,606 | 0,04 | 2,53a   | 1,89    |
| Quota Azoto Fecale                   | 0,31           | 0,069 | 0,01 | 0,28b   | 0,37a   |
| Quota Azoto Ureico Urinario          | 0,02           | 0,058 | 0,54 | 0,20    | 0,21    |
| Quota Ritenzione Azotata             | 0,25           | 0,095 | 0,03 | 0,52a   | 0,41b   |

*La ricerca è stata finanziata dal MiPAF (Roma) nell'ambito del Progetto "RENAI": Tecnologie alimentari per la riduzione dell'impatto ambientale da azoto negli allevamenti intensivi italiani".*

**BIBLIOGRAFIA** – Adamson, I, Fisher, H., 1973. Amino acid requirement of the growing rabbit: an estimate of quantitative needs. *J. Nutr.* 103:1306-1310. **Cherubini**, R., Barge, P., Baricco, G., de Poi, E., Masoero, G., 2008. Very low protein, aminoacid-supplied diet for heavy broiler rabbits: effects on growth, feed efficiency, carcass and meat performances. In: *Proc. 9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, Verona, Italy, pp. 596-600. **Masoero**, G., Baricco, G., Cherubini, R., Barge, P., Sala, G., de Poi, E., 2008. Very low protein, aminoacid-supplied diet for heavy broiler rabbits: effects on nitrogen metabolism, and digital evaluation of excreta and products. In: *Proc. 9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, Verona, Italy, pp. 729-734. **Taguchi**, G., 1991. Introduzione alle tecniche per la qualità; progettare qualità nei prodotti e nei processi, Franco Angeli/Azienda Moderna. **Trocino**, A., Xiccato, G., Sartori, A., Queaque, P.I., 2000. Feeding plans at different protein levels: effects on growth performance, meat quality and nitrogen excretion in rabbits. In: *Proc. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, Valencia, Spain, C:467-47.