



UNIwersytet Rolniczy
im. Hugona Kollątaja w Krakowie
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt



mgr inż. Patrycja Rajtar

**Ziarno żyta hybrydowego jako alternatywa
dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych***

*Badania finansowano ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo”, na podstawie umowy nr BIOSTRATEG2/297910/12/NCBR/2016

Praca doktorska wykonana w Katedrze Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa

Promotor: prof. dr hab. inż. Piotr Micek
Promotor pomocniczy: dr inż. Paweł Górka, prof. URK
Obszar wiedzy: nauki rolnicze, leśne i weterynaryjne
Dziedzina wiedzy: nauki rolnicze
Dyscyplina: zootechnika

Kraków, 2022

„Co my wiemy, to tylko kropelka. Czego nie wiemy, to cały ocean.”

Isaac Newton

*Składam serdeczne podziękowania
prof. dr hab. inż. Piotrowi Mickowi
za możliwość napisania tej pracy pod
swoimi skrzydłami, za cierpliwość i wyrozumiałość
oraz cenne uwagi udzielone w trakcie realizacji badań
oraz pisanie publikacji i pracy doktorskiej*

***dr hab. inż. Pawłowi Górcze, prof. URK**
za zaangażowanie, wszechstronną pomoc
i poświęcony czas na każdym etapie
przygotowania publikacji i pracy doktorskiej*

*Współautorom publikacji
za owocną współpracę i cenny wkład w dokonane osiągnięcia naukowe*

*Pracownikom Katedry Żywności, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa na czele
z kierownikiem **prof. dr hab. inż. Zygmuntem M. Kowalskim**
za miłą współpracę oraz pomoc nie tylko w życiu zawodowym*

oraz mężowi i rodzicom za wsparcie w trakcie realizacji tej pracy.

Wzór karty dyplomowej

Patrycja Rajtar

/ Imię i nazwisko autora pracy /

Piotr Micek

/ Imię i nazwisko promotora pracy /

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt - Zootechnika

/ Wydział - kierunek studiów /

Katedra Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa

/ Katedra / Instytut /

Doktor nauk rolniczych

/ Nadawany tytuł /

Tytuł pracy w języku
polskim

Zastosowanie ziarna żyta hybrydowego jako alternatywa dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych

Słowa kluczowe
/maksymalnie 5 słów /

Żyto hybrydowe, krowy mleczne, przydatność paszowa, produkcja mleka

Streszczenie pracy
/ maksymalnie 1200 znaków /

Ze względu na niższą przydatność paszową w stosunku do innych gatunków zbóż ziarno żyta nie było dotychczas chętnie stosowane w żywieniu krów mlecznych. Nowe, hybrydowe odmiany żyta charakteryzują się podwyższoną wartością pokarmową ziarna, jednak ich wpływ na produktywność zwierząt nie był wystarczająco poznany. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było określenie możliwości zastosowania ziarna żyta odmiany hybrydowej jako alternatywy dla ziarna kukurydzy w żywieniu przeżuwaczy. Badania przeprowadzono na zwierzętach przetokowanych w celu sprawdzenia strawności poszczególnych składników pokarmowych oraz na zwierzętach produkcyjnych w celu sprawdzenia wpływu ziarna żyta hybrydowego na wydajność mleka oraz jego przydatność technologiczną. Przeprowadzone badania wykazały, że ziarno żyta odmiany hybrydowej może być alternatywą dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych w pełnej laktacji. Na podkreślenie zasługuje jednak fakt, że w porównaniu z ziarnem kukurydzy, dawki pokarmowe z udziałem ziarna żyta mają niższy potencjał do stymulowania produkcji mleka, co może znacząco ograniczyć wydajność zwierząt w szczycie laktacji.

Tytuł pracy w języku
angielskim

Hybrid rye grain as an alternative to maize grain in the dairy cows nutrition

Słowa kluczowe
/maksymalnie 5 słów /

Hybrid rye, dairy cows, feed suitability, milk production

Streszczenie pracy
/ maksymalnie 1200 znaków /

Due to the lower nutritive value, in relation to other types of cereals, rye grain has not been eagerly used in the feeding of dairy cows so far. The new, hybrid varieties of rye are characterized by an increased nutritional value of the grain, but their impact on the productivity of animals has not been sufficiently studied. The aim of this doctoral dissertation was to determine the possibility of using hybrid variety of rye grain as an alternative to maize grain in the nutrition of ruminants. The trials were carried out on fistuled animals in order to check the digestibility of individual nutrients and on production animals in order to check the effect of hybrid rye grain on milk yield and its technological usefulness. The studies showed that hybrid rye grain can be an alternative energy source to maize grain in the feeding of mid-lactation dairy cows. However, compared to maize grain, the TMR diet with rye grain has a lower potential to stimulate milk production, which may significantly reduce the animal's performance at the peak of lactation.

/ Podpis promotora pracy /

Oświadczenie autora pracy

Ja, niżej podpisany/-a:

Patrycja Rajtar

/ Imię i nazwisko /

784

/ Numer albumu /

autor pracy dyplomowej pt.:

Zastosowanie ziarna żyta hybrydowego jako alternatywa dla ziarna kukurydzy
w żywieniu krów mlecznych

/ Tytuł pracy /

Prowadzonego przewodu doktorskiego w Uniwersytecie Rolniczym im. Hugona Kołłątaja
w Krakowie

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Oświadczam, że ww. praca dyplomowa:

- została przygotowana przeze mnie samodzielnie¹,
- nie narusza praw autorskich w rozumieniu ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (Dz.U.2018. poz. 1191 t.j. z dnia 21.06.2018) oraz dóbr osobistych chronionych prawem cywilnym,
- nie zawiera danych i informacji, które uzyskałem/-am w sposób niedozwolony,

1. Oświadczam również, że treść pracy dyplomowej zamieszczonej przeze mnie w Archiwum Prac Dyplomowych jest identyczna z treścią zawartą w wydrukowanej wersji pracy.
2. W związku z realizowaniem przez Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie zadań ustawowych i statutowych, szczególnie w zakresie prowadzenia działalności dydaktycznej i naukowo-badawczej upoważniam Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja do archiwizowania i przechowywania w/w pracy utrwalonej w postaci tradycyjnej (papierowej) i elektronicznej - zgodnie z ustawą - prawo o szkolnictwie wyższym i przepisami wykonawczymi do tej ustawy, ustawą o narodowym zasobie archiwalnym i archiwach oraz ustawą o prawie autorskim i prawach pokrewnych.

Jestem świadomy/-a odpowiedzialności karnej za złożenie fałszywego oświadczenia.

Kraków, dn.r.

/ Miejsce i data/

/ Podpis autora pracy/

¹ uwzględniając merytoryczny wkład opiekuna/promotora

Spis treści

Oznaczenia i skróty stosowane w pracy.....	7
Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu monotematycznego oraz oświadczenia współautorów publikacji.....	9
1. Wstęp.....	13
1.1. Charakterystyka agronomiczna odmian żyta hybrydowego	14
1.2. Skład chemiczny ziarna żyta	17
1.3. Strawność składników pokarmowych ziarna żyta	19
1.4. Ziarno żyta w praktycznym żywieniu przeżuwaczy	20
2. Hipoteza i cel badań.....	22
3. Materiał i metody badań.....	23
3.1. Czynniki doświadczalne, etapy badań i materiał badawczy	23
3.2. Metody badań.....	25
3.2.1. Zwierzęta doświadczalne	25
3.2.2. Badania <i>in sacco</i>	25
3.2.2.1. Rozkład składników pokarmowych w żwaczu.....	25
3.2.2.2. Strawność składników pokarmowych w jelitach	26
3.2.3. Badania <i>in vitro</i>	27
3.2.3.1. Rzeczywista strawność <i>in vitro</i>	27
3.2.3.2. Metoda gazowa „gas-test”	28
3.2.4. Przemiany w żwaczu i strawność składników pokarmowych – badania <i>in vivo</i>	29
3.2.5. Doświadczenie produkcyjne na krowach mlecznych.....	30
3.2.5.1. Pobieranie reprezentatywnych próbek mleka.....	31
3.2.6. Analizy chemiczne i testy laboratoryjne	32
3.2.6.1. Skład chemiczny pasz, niedojadów i treści pokarmowej.....	32
3.2.6.2. Analizy i testy laboratoryjne mleka	33
3.3. Analiza statystyczna danych	34
4. Wyniki	36
4.1. Wpływ metody rozdrobnienia ziarna żyta i kukurydzy na stopień i tempo rozkładu suchej masy, białka i skrobi w żwaczu oraz strawność jelitową białka i skrobi, które nie uległy rozkładowi w żwaczu - badania strawnościowe <i>in sacco</i> i <i>in vitro</i>	36
4.2. Wpływ zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta na przemiany w żwaczu i strawność składników pokarmowych – badania modelowe <i>in vivo</i> na owcach ..	37

4.3. Badania wpływu zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta odmiany hybrydowej na wydajność, skład chemiczny i przydatność technologiczną mleka - doświadczenie produkcyjne na krowach mlecznych	38
5. Dyskusja	40
5.1. Rozkład w żwaczu i strawność jelitowa składników ziarna żyta i kukurydzy	40
5.2. Wskaźniki fermentacji w żwaczu i strawność składników pokarmowych u owiec żywionych z udziałem ziarna kukurydzy lub ziarna różnych odmian żyta	46
5.3. Efekty produkcyjne i przydatność technologiczna mleka krów żywionych z udziałem ziarna żyta odmiany hybrydowej	50
6. Wnioski	57
7. Literatura	58
8. Streszczenie w języku polskim.....	71
9. Abstract.....	73

Oznaczenia i skróty stosowane w pracy

A	– stała rozkładu w żwaczu, frakcja rozpuszczalna, ulegająca natychmiastowemu rozkładowi w żwaczu
AA	– aminokwasy
ADF	– włókno kwaśno-detergentowe (ang. Acid Detergent Fiber)
ADL	– lignina kwaśno-detergentowa (ang. Acid Detergent Lignin)
B	– stała rozkładu w żwaczu, frakcja ulegająca rozkładowi w żwaczu z szybkością C
BO	– białko ogólne
BTJE	– białko trawione w jelicie cienkim z uwzględnieniem podaży energii dla bakterii żwacza
BTJN	– białko trawione w jelicie cienkim z uwzględnieniem podaży azotu dla bakterii żwacza
BTJP	– białko trawione w jelicie pochodzące z paszy, które nie uległo rozkładowi w żwaczu
C	– stała rozkładu w żwaczu, szybkość rozkładu (fermentacji) frakcji B w żwaczu
DMI	– pobranie suchej masy (ang. Dry Matter Intake)
EE	– tłuszcz surowy (ekstrakt eterowy)
ERŻ	– efektywny rozkład w żwaczu
GP24	– produkcja gazu (ang. Gas Production) w trakcie 24 godzinnej inkubacji
Gas-test	– metoda gazowa badań strawnościowych <i>in vitro</i> (ang. Gas Production Technique)
IVTD	– rzeczywista strawność <i>in vitro</i> (ang. In Vitro True Digestibility)
JPM	– jednostka paszowa produkcji mleka
KT	– kwasy tłuszczowe
Liz	– lizyna
LKS	– lotne kwasy tłuszczowe
Met	– metionina
MUFA	– jednonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. Monounsaturated Fatty Acids)
NDF	– włókno neutralno-detergentowe (ang. Neutral Detergent Fiber)
NFC	– węglowodany niestrukturalne (ang. Non-Fiber Carbohydrates)
NSP	– polisacharydy nieskrobiowe (ang. Non-Starch Polysaccharides)

OMD	– strawność <i>in vitro</i> masy organicznej
PS	– popiół surowy
PUFA	– wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. Polyunsaturated Fatty Acids)
scpp	– strawność w całym przewodzie pokarmowym składnika pochodzenia paszowego
sjp	– strawność jelitowa składnika pochodzenia paszowego
SM	– sucha masa
Thr	– treonina
TMR	– dawka kompletna (ang. Total Mixed Ration)
Trp	– tryptofan

**Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu monotematycznego
oraz oświadczenia współautorów publikacji**

Podstawą niniejszej rozprawy doktorskiej są wyniki badań własnych, przedstawionych w formie trzech oryginalnych publikacji naukowych:

1. **Rajtar P.**, Górka P., Schwarz T., Micek P. 2020. Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Annals of Animal Science* 20 (3): 1065-1083. DOI:10.2478/aoas-2020-0025. MEiN 140 pkt., IF 1,572.
2. **Rajtar P.**, Górka P., Śliwiński B., Wieczorek J., Boros D., Micek P. 2021. Effect of rye grain derived from different cultivars or maize grain use in the diet on ruminal fermentation parameters and nutrient digestibility in sheep. *Annals of Animal Science* 21 (3): 959-976. DOI:10.2478/aoas-2020-0118. MEiN 140 pkt, IF 2,090.
3. **Rajtar P.**, Sady M., Górka P., Kehoe S., Micek P. 2022. Effect of replacing maize grain by hybrid rye grain in TMR on performance of mid-lactating dairy cows. *Annals of Animal Science* 22 (1): 237-254. DOI:10.2478/aoas-2021-0006. MEiN 140 pkt, IF 2,090.

Oświadczenie współautorów publikacji

Rajtar P., Górka P., Schwarz T., Micek P. 2020. Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Annals of Animal Science*, 20 (3): 1065-1083. *MSiN 100 pkt., IF 1,572.*

Niniejszym oświadczamy, że procentowy indywidualny wkład autorski **mgr inż. Patrycji Rajtar** w powstanie tej publikacji wynosi **60%**. Wkład ten dotyczy współudziału w opracowaniu koncepcji oraz metodyki badań, wykonania części analiz laboratoryjnych i badań na zwierzętach wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy, opracowania i interpretacji wyników badań oraz współudziału w przygotowaniu publikacji do druku, a także odpowiedzi na uwagi recenzentów.

*Dokument przygotowano w związku z postępowaniem o nadanie
Pani mgr inż. Patrycji Rajtar stopnia doktora nauk rolniczych*

Imię i nazwisko Współautora

Data i podpis Współautora

mgr inż. Patrycja Rajtar

15.12.2021 Patrycja Rajtar

dr hab. inż. Paweł Górka, prof. UR

14.12.2021 Górka

dr inż. Tomasz Schwarz, prof. UR

Schwarz

prof. dr hab. inż. Piotr Micek

Micek

Oświadczenie współautorów publikacji

Rajtar P., Górka P., Śliwiński B., Wieczorek J., Boros D., Micek P. 2021. Effect of rye grain derived from different cultivars or maize grain use in the diet on ruminal fermentation parameters and nutrient digestibility in sheep. *Annals of Animal Science*, 21 (3): 959-976. *MSiN 100 pkt., IF 2,090.*

Niniejszym oświadczamy, że procentowy indywidualny wkład autorski **mgr inż. Patrycji Rajtar** w powstanie tej publikacji wynosi **55%**. Wkład ten dotyczy współudziału w opracowaniu schematu doświadczeń i koncepcji badań, zaplanowania metodyki i harmonogramu badań na owcach, wykonania części doświadczalnej, pobierania i przygotowania materiału biologicznego, opracowania i interpretacji wyników badań oraz przygotowania manuskryptu publikacji.

*Dokument przygotowano w związku z postępowaniem o nadanie
Pani mgr inż. Patrycji Rajtar stopnia doktora nauk rolniczych*

Imię i nazwisko Współautora

Data i podpis Współautora

mgr inż. Patrycja Rajtar

15.12.2021 Patrycja Rajtar

dr hab. inż. Paweł Górka, prof. UR

14.12.2021
Pawel Górka

dr inż. Bogdan Śliwiński

2021-12-17 B.Sliwinski

dr wet. Jarosław Wieczorek

17.12.2021 Jaroslaw Wieczorek

prof. dr hab. inż. Danuta Boros

09.12.2021 Danuta Boros

prof. dr hab. inż. Piotr Micek

09.12.2021 Piotr Micek

Oświadczenie współautorów publikacji

Rajtar P., Sady M., Górka P., Kehoe S., Micek P. 2021. Effect of replacing maize grain by hybrid rye grain in TMR on performance of mid-lactating dairy cows. *Annals of Animal Science*. DOI: 10.2478/aoas-2021-0006.

MSiN 100 pkt., IF 2,090.

Niniejszym oświadczamy, że procentowy indywidualny wkład autorski mgr inż. Patrycji Rajtar w powstanie tej publikacji wynosi 50%. Wkład ten dotyczy współdziałania w przygotowaniu schematu doświadczenia i koncepcji badań, opracowania metodyki, udziału w części eksperymentalnej badań na krowach mlecznych, pobierania i przygotowania próbek pasz i mleka do badań, a także opracowania wyników i przygotowania manuskryptu publikacji.

*Dokument przygotowano w związku z postępowaniem o nadanie
Pani mgr inż. Patrycji Rajtar stopnia doktora nauk rolniczych*

Imię i nazwisko Współautora

Data i podpis Współautora

mgr inż. Patrycja Rajtar

15.12.2021 Patrycja Rajtar

dr hab. inż. Marek Sady, prof. UR

16.12.2021 MZ Sady

dr hab. inż. Paweł Górka, prof. UR

16.12.2021 P. Górka

prof. Sylvia Kehoe

Sylvia Kehoe, 9-12-2021

prof. dr hab. inż. Piotr Micek

Piotr Micek

1. Wstęp

Kukurydza jest obecnie najważniejszą rośliną pastewną stosowaną w żywieniu zwierząt gospodarskich, w tym krów mlecznych. Ziarno kukurydzy charakteryzuje się wysoką zawartością skrobi, co sprawia, iż posiada najwyższą wartość energetyczną dla zwierząt przeżuwających spośród wszystkich gatunków zbóż. Jego zaletą jest również niska podatność skrobi na fermentację w żwaczu oraz niewielka zawartość substancji antyodżywczych i włókna, co determinuje wysoką strawność jego składników pokarmowych. Niestety, wysokie ceny kukurydzy powodowane rosnącymi trudnościami w jej uprawie (wysokie wymagania glebowe i nawozowe, droga ochrona, niski poziom wód gruntowych) oraz konieczność dosuszania ziarna powodują, że poszukiwane są alternatywne gatunki zbóż, które mogłyby zastąpić kukurydzę w żywieniu wysoko wydajnych zwierząt przeżuwających (Petr, 2005; Grajewski i in., 2012). W tym zakresie coraz większe nadzieje wiąże się z rodzimymi gatunkami zbóż uprawianymi w formie odmian mieszańcowych (hybrydowych).

Spośród gatunków zbóż wykorzystywanych w rolnictwie, hybrydowe odmiany dominują w uprawie kukurydzy (Święcicki i in., 2011). Jednak niższe koszty produkcji, możliwość uprawy na słabszych glebach, wysoka zawartość lizyny i co najbardziej istotne, najmniejsze spośród wszystkich gatunków zbóż skażenie mikotoksynami ziarna obserwuje się u hybrydowych odmian żyta. Odmiany hybrydowe tego gatunku odznaczają się wysokim i stabilnym plonowaniem (wyższym niż odmiany tradycyjne - populacyjne), większą odpornością na choroby i wyleganie, dużą zdolnością adaptacyjną oraz wysoką tolerancją na jakość gleb i warunki środowiska (Geiger i Miedaner, 2009; Jürgens i in., 2012). Ponadto, w porównaniu do odmian populacyjnych, charakteryzują się znacząco mniejszą zawartością substancji antyodżywczych (Makarska i in., 2007; Schwarz i in., 2015; Miedaner i Geiger, 2015).

Ponad dziesięciokrotnie mniejsza zawartość mikotoksyn w ziarnie żyta, w porównaniu do ziarna innych krajowych gatunków zbóż (Grajewski i in., 2012), wpływa pozytywnie na zdrowie zwierząt i bezpieczeństwo produktów pochodzenia zwierzęcego. Badania przeprowadzone przez Pieszkę i in. (2015) wykazały mniejszą liczbę komórek somatycznych w mleku krów żywionych z udziałem ziarna żyta oraz pozytywne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych mleka. Nie obserwowano przy tym negatywnego wpływu żyta na wydajność i podstawowy skład chemiczny mleka.

Śrutowanie ziarna zbóż jest popularnym zabiegiem technologicznym stosowanym przez wielu hodowców, jednak zabieg ten przyczynia się do nadmiernej fermentacji

w żwaczu, co może prowadzić do zaburzeń pokarmowych u przeżuwaczy. Dlatego uważa się, że gniecenie lub stosowanie całego ziarna w żywieniu zwierząt przeżuwających może być korzystniejsze z uwagi na spowolnienie procesu fermentacji skrobi, poprawę struktury treści pokarmowej i stworzenie optymalnych warunków dla syntezy białka mikrobiologicznego w żwaczu (Brzóska, 2007; Kowalski i in., 2008). W tym kontekście w nowoczesnych systemach żywienia przeżuwaczy coraz częściej zwraca się uwagę nie tylko na gatunek i odmianę ziarna zbóż, ale także na jego formę fizyczną.

1.1. Charakterystyka agronomiczna odmian żyta hybrydowego

Żyto (*Secale cereal L.*) to zboże uprawiane głównie w Europie. W 2019 r. na świecie wyprodukowano 12,8 mln ton ziarna żyta, z czego prawie 11,1 mln ton w Europie. Do największych producentów tego zboża należą Niemcy, Polska i Rosja, które odpowiadają za około 55% światowej jego produkcji (FAOSTAT, 2020). W ostatnich dekadach produkcja żyta zmniejszyła się jednak znacząco na korzyść uprawy kukurydzy, pszenicy, jęczmienia, sorgo, prosa, owsa i pszenżyta (FAOSTAT, 2020). Podobnie jak w przypadku pszenicy, jednym z podstawowych zastosowań ziarna żyta jest konsumpcja (wypiek chleba), jednak można go z powodzeniem używać także do destylacji alkoholu, produkcji biogazu lub też jako paszę dla zwierząt (Bengtsson i in., 1992; Geiger i Miedaner, 2009; Balcerek i in., 2016). W Europie żyto nie jest powszechnie wykorzystywane jako pasza dla zwierząt gospodarskich. Wraz z pojawianiem się nowych, hybrydowych odmian charakteryzujących się wyższą przydatnością paszową i lepszymi właściwościami uprawowymi (Jürgens i in., 2012), jego znaczenie w przemyśle paszowym może systematycznie wzrastać (Miedaner i in., 2019).

Żyto może być uprawiane na glebach ubogich, piaszczystych i kwaśnych. Jest bardziej odporne od innych gatunków zbóż na szkodniki i choroby grzybowe (Geiger i Miedaner, 2009), a także na niekorzystne warunki uprawy ze względu na głęboki system korzeniowy, który zmniejsza jego wrażliwość na suszę (Boros i in., 1993; Evans i Scoles, 1976; Geiger i Miedaner, 2009; Jürgens i in., 2012). Dzięki właściwościom allelopatycznym, żyto ogranicza kiełkowanie i wzrost chwastów (Teasdale, 1996), dlatego jego włączenie do płodozmianu może ograniczać zachwaszczenie pól, a tym samym poprawiać wydajność gleby (Sullivan i in., 2005).

Pierwszą odmianę żyta mieszańcowego, zwanego powszechnie „hybrydowym” opracowano i wprowadzono na rynek w 1984 r. Od 2014 r. około 80% odmian żyta

uprawianego w Niemczech stanowią odmiany hybrydowe (Laidig i in., 2017). W Polsce powierzchnia uprawy żyta wynosi 800 tys. ha, z czego 10% stanowią odmiany hybrydowe (GUS, 2021). Najważniejszą cechą żyta tych odmian jest przede wszystkim zwiększony potencjał plonowania w stosunku do odmian populacyjnych. Przy prawidłowej agrotechnice plon ziarna żyta hybrydowego może przewyższać plony ziarna innych gatunków zbóż (Geiger i Miedaner, 2009). W University of Minnesota, a także w North Dakota State University przeprowadzono wieloletnie próby polowe wysokowydajnych odmian żyta, w tym dwóch odmian hybrydowych opracowanych przez firmę KWS (Bergen, Niemcy). W latach 2016 - 2018 jedna z odmian hybrydowych żyta plonowała na poziomie od 10,2 do 12,8 t/ha, natomiast druga od 9,5 do 10,7 t/ha. W tych samych warunkach agrotechnicznych najlepsza odmiana populacyjna żyta plonowała w granicach od 6,6 do 8,5 t/ha. Na mniej żyznych glebach średni plon odmiany hybrydowej żyta wyniósł 5,3 t/ha, podczas gdy u najlepszej odmiany populacyjnej zaledwie od 2,6 do 4,2 t/ha (Wiersma i in., 2018).

Podstawą hodowli żyta hybrydowego jest maksymalizacja efektu heterozji, czyli zwiększenia bujności mieszańców pokolenia F1. Dzięki temu efektowi potomstwo F1 przewyższa pod względem jednej lub kilku cech ilościowych formy rodzicielskie (Geiger i Miedaner, 2009). Powszechnie stosowanym standardem w produkcji materiału siewnego jest wykorzystywanie linii wsobnych w celu zmniejszenia zmienności genetycznej i zapewnienia jednolitego potomstwa u osobników pierwszego pokolenia. Produkcja nasion żyta hybrydowego jest skomplikowana, ponieważ żyto jest z natury zapylaczem krzyżowym, co oznacza, że nie może się samozapładniać. Dlatego materiał siewny odmian żyta hybrydowego powstaje każdorazowo przez krzyżowanie określonych zbiorowości roślin, zgodnie z podanym przez hodowcę danej odmiany sposobem i kolejnością. Na proces hodowli składa się wiele etapów, po których następują badania wartości gospodarczej ziarna. Przy braku zastrzeżeń co do odrębności, wyrównania i trwałości, nowa odmiana żyta hybrydowego jest rejestrowana, a jej materiał siewny może być namnażany na skalę masową i sprzedawany producentom (Geiger i Miedaner, 2009).

Znaczącym problemem w uprawie roślin odmian hybrydowych, a tym samym w ich powszechnym stosowaniu w żywieniu zwierząt, była niewystarczająca produkcja pyłku, co w niekorzystnych warunkach pogodowych przyczyniło się do niepełnego zapylania i w konsekwencji stwarzało korzystne warunki do porażenia kłosów sporyzmem. Toksyny zawarte w przetrwalnikach sporyzmu są trujące dla ludzi

i zwierząt, dlatego partie ziarna przekraczające dopuszczalne normy są dyskwalifikowane i nie mogą być wykorzystane na cele spożywcze lub paszowe (Agriopoulou, 2021). Szkodliwe skutki zdrowotne toksyn sporyszu u zwierząt odnotowano już w stężeniach tak niskich jak 100 µg na kg ziarna (Coufal-Majewski i in., 2016). Sporysz nie tylko stanowi zagrożenie dla zdrowia zwierząt i ludzi, ale także zmniejsza plony żyta, ponieważ ciemne masy materiału grzybowego, określane jako „sklerocja sporyszu”, gromadzą się tam, gdzie powinny rozwijać się ziarniaki. Ciałka sklerocji zawierają alkaloidy i są zaangażowane w produkcję zarodników w celu zachowania cyklu życiowego sporyszu (Nicholson, 2007). W UE żyto jest uważane za niezdatne do spożycia przez ludzi, jeśli zawiera wagowo więcej niż 0,05% sklerocji sporyszu i za nienadające się na paszę dla zwierząt, jeśli zawartość sklerocji przekracza 0,1%.

Obniżenie podatności roślin hybrydowych na zakażenie sporyszem uzyskano poprzez wykorzystanie efektu heterozji (Miedaner i Geiger, 2015), co doprowadziło do znaczącego obniżenia zawartości substancji szkodliwych w ziarnie (Makarska i in., 2007). Częściowym rozwiązaniem tego problemu było również wyhodowanie odmian hybrydowych z wykorzystaniem systemu „*Pollen Plus*”, który zapewnia zwiększone pylenie roślin. Cecha ta wykorzystuje geny regenerujące pyłki *Rfp1* i *Rfp2* w celu poprawy wydajności rozsiewania pyłku i zminimalizowania możliwości zakażenia sporyszem niezapłodnionych główek nasion. Inne osiągnięte cele hodowlane żyta hybrydowego, takie jak skrócenie czasu otwarcia kwiatów na zapylenie i poprawa synchronizacji kwitnienia, również minimalizują ryzyko zakażenia tym grzybem (Miedaner i in., 2017). Warto podkreślić, że ziarno żyta zanieczyszczone sporyszem można być oczyszczone mechanicznie. Czyszczenie mechaniczne jest standardową procedurą w młynach, które przetwarzają ziarno żyta na cele konsumpcyjne lub paszowe i eliminują ryzyko związane z obecnością toksycznych alkaloidów w produktach (Choszcz i in., 2020; Saitov i in., 2020).

Podobnie jak ziarno pozostałych gatunków zbóż, żyto może zawierać mikotoksyny inne niż te wytwarzane przez sporysz. W badaniach Stuper-Szablewska i Perkowski (2017) ziarno żyta i owsa zawierało więcej ergosterolu, deoksyniwalenolu (DON), fusarenonu X, 3-acetylowego DON, 15-acetylowego DON, niwalenolu i mikotoksyn ogółem niż pszenica, jęczmień lub pszenżyto. Koncentracja mikotoksyn w ziarnie zbóż jest zmienna i zależy od warunków środowiskowych w czasie wzrostu roślin oraz od sposobu zarządzania uprawami. Badania porównawcze prowadzone pod kątem ryzyka pojawienia się zanieczyszczeń grzybami *Fusarium* wskazują, że spośród wszystkich

gatunków zbóż uprawianych na ziarno, żyto ma najwyższą odporność na pleśń i najniższy poziom ich toksyn w ziarnie (Grajewski i in., 2012). W powyższym kontekście warto zwrócić uwagę, że pomimo coraz szerszego stosowania nowoczesnych zaleceń agrotechnicznych w uprawach żyta oraz odmian hybrydowych, w dalszym ciągu panuje przekonanie, że żyto podawane krowom mlecznym może niekorzystnie wpłynąć na pobranie paszy oraz na wydajność mleka tych zwierząt (Kraszewski i Kozłowski, 2000). Dlatego monitorowanie obecności mikotoksyn w paszach dla zwierząt ma kluczowe znaczenie zarówno dla ich zdrowia, jak i dla zachowania wysokiej jakości produktów pochodzenia zwierzęcego (Grajewski i in., 2012).

Oprócz alkaloidów sporyszu, mikotoksyn i alkilorezorcynoli, żyto zawiera inne czynniki antyodżywcze, które ograniczały jego zastosowanie w dawkach pokarmowych dla zwierząt gospodarskich. Dotyczy to między innymi inhibitorów trypsyny, których u tego gatunku jest więcej niż w ziarnie jęczmienia, pszenicy czy owsa, ale mniej niż w nasionach soi (Sosulski i in., 1988; Herkelman i in., 1992; Schwarz i in., 2015). Odnotowuje się jednak systematyczne zmniejszanie zawartości tych substancji w ziarnie odmian hybrydowych, co stwarza potencjalne możliwości szerszego stosowania ziarna żyta na cele paszowe (Schwarz i in., 2015).

1.2. Skład chemiczny ziarna żyta

Energia zawarta w ziarnie żyta pochodzi przede wszystkim ze skrobi, która stanowi od 50 do 65% masy ziarniaków (Nilsson i in., 2000; Jondreville i in., 2001; Schwarz i in., 2015; Strang i in., 2016). Zawartość energii brutto wynosi około 4400 kcal/kg suchej masy (SM; Cervantes-Pahm i in., 2013; Rodehutschord i in., 2016). Żyto zawiera od 12 do 17% włókna pokarmowego, czyli więcej niż pszenica, sorgo i kukurydza, natomiast mniej niż jęczmień czy owies (Bach Knudsen, 1997; Hansen i in., 2003; Salmenkallio-Marttila i Hovinen, 2005; NRC, 2012; Cervantes-Pahm i in., 2013; Strang i in., 2016). W porównaniu do ziarna innych gatunków zbóż, żyto charakteryzuje się większą koncentracją fruktanów wynoszącą ok. 3% (Bach Knudsen, 1997; Lærke i in., 2015; Strang i in., 2016; Rodehutschord i in., 2016). Fruktany oznaczane metodą enzymatyczną (McCleary i in., 2000), stanowią nawet od 4,5 do 6,6% SM tego ziarna (Hansen i in., 2003; Karppinen i in., 2003).

W ziarnie żyta obecne są w dużych ilościach polisacharydy nieskrobiowe (non-starch polysaccharides; NSP) do których zalicza się przede wszystkim arabinoksylany,

mieszane β -glukany i celulozę (Bach Knudsen, 1997). Zawartość arabinoksylianów w życie kształtuje się na poziomie od 6 do 12% SM, średnio 8 - 9% (Hansen i in., 2003; Salmenkallio-Marttila i Hovinen, 2005; Jürgens i in., 2012; Strang i in., 2016; Rodehutschord i in., 2016). Żyto zawiera więcej rozpuszczalnych arabinoksylianów niż ziarna innych gatunków zbóż, co w przypadku żywienia zwierząt monogastrycznych jest skorelowane ze zwiększoną lepkością treści pokarmowej (Jürgens i in., 2012; Kasprzak i in., 2012). Warto jednak podkreślić, że nie tylko genotyp rośliny, ale także warunki jej wzrostu i rozwoju wpływają na zawartość i rozpuszczalność arabinoksylianów (Drews i Seibel, 1976; Bengtsson i in., 1992; Hansen i in., 2003; Jürgens i in., 2012; Rodehutschord i in., 2016), a te z kolei cechy wywierają istotny wpływ na strawność składników pokarmowych całej dawki pokarmowej (Fengler i Marquardt, 1988; Petterson i Åman, 1989; Nilsson i in., 2000; Ragaee i in., 2001; Bach Knudsen i in., 2005; Le Gall i in., 2009; Jürgens i in., 2012; Zuber i in., 2016).

W przypadku zwierząt przeżuwających o przydatności paszowej ziarna zbóż decyduje w dużym stopniu zawartość skrobi i jej podatność na rozkład w żwaczu. Najmniej dostępna dla zwierząt jej część, tzw. skrobia oporna, uważana jest za składnik włókna i definiowana jako skrobia, która nie ulega trawieniu w jelicie cienkim (Englyst i in., 1992; FDA, 2018). Zawartość skrobi odpornej w ziarnie żyta jest trudna do jednoznacznego określenia. W wyniku izolacji enzymatycznej stwierdzono, że udział skrobi odpornej w ogólnej zawartości skrobi w ziarnie żyta wynosi poniżej 1%. Niektóre wyniki badań wykonanych na świniami wskazują jednak, że udział skrobi odpornej w życie może przekraczać 1% (Cervantes-Pahm i in., 2013; Laerke i in., 2015; Buksa, 2018). W dalszym ciągu są to jednak wartości niewielkie w stosunku do ogólnej zawartości skrobi w ziarnikach żyta, która wynosi średnio ok. 64% (Micek, 2008). W porównaniu ze skrobią ziarna kukurydzy, skrobia żytnia ulega szybszej fermentacji w żwaczu (Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017), co może zwiększać ryzyko kwasicy żwacza (Plaizier i in., 2009). Dodatkowo, stosunkowo niska wartość energetyczna (NRC, 2001; Micek, 2008) ziarna tego zboża powodowała, że dotychczas hodowcy niechętnie stosowali żyto w żywieniu wysoko wydajnych przeżuwaczy.

Innym ważnym składnikiem włókna jest lignina. Zawartość ligniny (ADL) w życie wynosi od 0,6 do 0,9%, natomiast zawartość włókna kwaśno-detergentowego (ADF) od 4 do 6% (Micek, 2008; Lærke i in., 2015; Strang i in., 2016; Rodehutschord i in., 2016). Duża zawartość ligniny w paszach jest niepożądana, gdyż składnik ten nie jest rozkładany przez enzymy endogenne zwierząt, ani nie ulega fermentacji przez drobnoustroje, przez

co przyczynia się do obniżenia strawności innych składników dawki pokarmowej (Wenk, 2001).

Zawartość i skład aminokwasowy (AA) białka ziarna żyta różni się w zależności od genotypu i warunków uprawy roślin. Ilość tych związków w ziarnie uznaje się za cechy dziedziczne, silnie modyfikowane czynnikami siedliskowymi i agrotechnicznymi (Fowler i in., 1990; Jürgens i in., 2012). W porównaniu ze starszymi odmianami żyta populacyjnego, odmiany żyta hybrydowego mają zwykle niższą zawartość białka ogólnego (BO) (NRC, 2012; Strang i in., 2016; Laidig i in., 2017). Koncentracja tego składnika w ziarnie żyta hybrydowego waha się przeciętnie od 8 do 13% (Jürgens i in., 2012; NRC, 2012; Pieszka i in., 2015; Schwarz i in., 2015; Strang i in., 2016). W porównaniu do pszenicy, jęczmienia czy kukurydzy żyto zawiera więcej lizyny (Liz), średnio ok. 0,4% (Cervantes-Pahm i in., 2014; Rodehutschord i in., 2016; Strang i in., 2016). Zawartość metioniny (Met), treoniny (Thr) i tryptofanu (Trp) wynosi odpowiednio około 0,2%, 0,3% i 0,1% (Cervantes-Pahm i in., 2014; Strang i in., 2016).

Zawartość wapnia (Ca) w ziarnie żyta jest niewielka, zwykle poniżej 0,05% (NRC, 2012; Rodehutschord i in., 2016). Z kolei zawartość fosforu (P) jest większa i wynosi od 0,3 do 0,4%, najczęściej występującego w formie fitynianów (Lott i in., 2000; Rodehutschord i in., 2016). Unikalną cechą żyta jest wysoka aktywność wewnętrznej fitazy, która może uwalniać P z fitynianów i poprawiać przyswajalność tego pierwiastka u zwierząt (Pointillart i in., 1987). Zawartość fitazy u tego zboża może sięgać 4000 FTU w kg ziarna, podczas gdy pszenica zawiera jej o połowę mniej, a kukurydza i sorgo są praktycznie pozbawione tego enzymu (Rodehutschord i in., 2016).

1.3. Strawność składników pokarmowych ziarna żyta

Wyniki badań wskazują, że strawność BO ziarna żyta u krów jest zbliżona do ziarna jęczmienia, ale mniejsza niż ziarna innych gatunków zbóż (Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017). Rozpatrując różnice odmianowe uważa się, że strawność składników pokarmowych ziarna starszych (populacyjnych) odmianach żyta jest większa niż ich odpowiedników w nowych odmianach żyta hybrydowego. Dotychczas niewiele jednak badań strawnościowych przeprowadzono na życie hybrydowym głównie (Strang i in., 2016). Friend i MacIntyre (1969) zwracają uwagę, że u świń strawność BO ziarna żyta jest większa niż ziarna jęczmienia (89 vs. 85%). Standaryzowana strawność BO wynosi odpowiednio 79% i 83% dla ziarna żyta i jęczmienia (NRC, 2012). W innych badaniach odnotowano, że strawność BO żyta u świń jest niższa i wynosi zaledwie 68% (Brestenský

i in., 2013). Lærke i in. (2015) ustalili, że strawność BO zbóż u rosnących świń uzależniona jest od wielkości rozdrobnienia ziarniaków. W badaniach tych stwierdzono, że w ziarnie żyta grubo zmielonego pozorna strawność BO wynosi około 45%, natomiast w ziarnie drobno zmielonym około 51%, znacznie mniej niż w przypadku ziarna pszenicy o podobnym rozdrobnieniu.

W badaniach przeprowadzonych przez innych autorów (Silveira i in., 2007, Seifried i in., 2016; Zhao i in., 2016; Krieg i in., 2017) stwierdzono różnice w stopniu i kinetyce rozkładu w żwaczu składników pokarmowych ziarna żyta, pszenicy i jęczmienia różnych odmian. W porównaniu ze skrobią z ziarna kukurydzy, skrobia żytnia jest dużo szybciej fermentowana w żwaczu (Micek, 2008; Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017), co może zwiększać ryzyko kwasicy żwacza (Plaizier i in., 2009). Właściwość ta, połączona z niższą wartością energetyczną ziarna żyta w porównaniu do ziarna kukurydzy (NRC, 2001), jest przyczyną niechętnego stosowania ziarna tego gatunku zbóż w dawkach pokarmowych dla wysoko wydajnych krów mlecznych lub bydła mięsnego (Micek, 2008).

Silveira i in. (2007) odnotowali różnice w pH oraz w stężeniu kwasu propionowego i kwasu octowego w płynie żwacza, a także w strawności składników pokarmowych w całym przewodzie pokarmowym u krów mlecznych żywionych dawkami pokarmowymi z udziałem różnych odmian jęczmienia. Z kolei badania przeprowadzone na trzodzie chlewnej wykazały różnice w strawności jelitowej aminokwasów (sjp AA) pochodzących z różnych genotypów ziarna żyta (Strang i in., 2016). U przeżuwaczy ustalono, że różnice w koncentracji składników pokarmowych oraz substancji antyodżywczych w ziarnie żyta populacyjnego i hybrydowego (Strang i in., 2016; Makarska i in., 2007; Miedaner i Geiger, 2015), mogą być powodem ich różnej przydatności paszowej.

1.4. Ziarno żyta w praktycznym żywieniu przeżuwaczy

Dotychczas żyto nie było chętnie stosowane jako składnik dawek pokarmowych dla przeżuwaczy. Wiązało się to z niską koncentracją białka i energii w tym ziarnie, małą jego smakowitością oraz wysoką zawartością czynników antyodżywczych, w tym obecnością sporyszu (Friend i MacIntyre, 1969; Antoniou i in., 1981; Bederska-Łojewska i in., 2017). Obserwowany w ostatnich latach rozwój hodowli odmian hybrydowych złagodził jednak niechęć producentów do stosowania ziarna tego gatunku zboża. Ziarno żyta jest przede wszystkim źródłem węglowodanów, a co za tym idzie energii. Zawartość

białka i AA w życie nie pokrywa zapotrzebowania zwierząt, stąd konieczne jest uzupełnianie dawek pokarmowych innymi paszami treściwymi.

W mieszankach paszowych uzupełniających dla bydła mięsnego udział ziarna żyta nie powinien przekraczać 20%. W zależności od masy ciała zwierząt zaleca się od 1 do 1,5 kg ziarna tego zboża na dzień na sztukę. Potwierdzają to badania przeprowadzone przez Kamyczka i in. (2012) na trzech grupach buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno białej, z których jedna żywiona była standardową mieszanką paszową a dwie pozostałe mieszanką z udziałem odpowiednio 20% lub 40% ziarna żyta hybrydowego. Nie stwierdzono pogorszenia wyników produkcyjnych u zwierząt żywionych z 20% udziałem ziarna żyta w stosunku do grupy kontrolnej. Ponadto otrzymane mięso charakteryzowało się wyższą zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz miało wyższą zawartość witaminy E. W przypadku krów mlecznych Pieszka i in. (2015) wykazali, że zastosowanie ziarna żyta hybrydowego w okresie wczesnej laktacji nie miało negatywnego wpływu na pobranie SM i wydajność mleka. Natomiast, odnotowano wyższy udział jedno- i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlecznym. Na podkreślenie zasługuje jednak bardzo mała liczba badań naukowych wykonanych na krowach mlecznych z udziałem ziarna żyta, zwłaszcza pochodzącego z odmian hybrydowych.

Ograniczenie w stosowaniu ziarna żyta w żywieniu krów mlecznych wynikało dotychczas z jego niskiej smakowości i wartości pokarmowej oraz nadmiernej podatności skrobi na rozkład w żwaczu. Koncepcja niniejszych badań zakłada, że postęp hodowlany, który dokonał się w ostatnich latach w dziedzinie tworzenia nowych odmian żyta spowodował istotną poprawę tych wskaźników przydatności paszowej dla przeżuwaczy. W tym kontekście szczególnego znaczenia nabrało ziarno żyta odmian hybrydowych, którego udział w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych można zwiększać poprzez stosowanie różnego typu zabiegów mechanicznej obróbki ziarna przed skarmianiem. Odpowiedni dobór tych metod wpływa korzystnie na zmniejszenie nadmiernego tempa rozkładu składników pokarmowych w żwaczu, a przez to pozwala zwiększać udział ziarna żyta w dawkach pokarmowych, bez podnoszenia potencjalnego zagrożenia wystąpieniem kwasicy żwacza.

2. Hipoteza i cel badań

Hipoteza badawcza

Hipoteza pracy zakłada, że ziarno hybrydowej odmiany żyta może być alternatywą dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych, nie powodując zmniejszenia wydajności mleka oraz nie wpływając negatywnie na skład chemiczny i przydatność technologiczną mleka. Weryfikacja przyjętej hipotezy badawczej wymagała uwzględnienia wielu czynników, w tym sposobu obróbki mechanicznej ziarna przed skarmianiem oraz przeprowadzenia badań na zwierzętach modelowych.

Cel badań

Celem badań było określenie przydatności paszowej ziarna hybrydowych odmian żyta w żywieniu przeżuwaczy oraz zbadanie możliwości zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych.

Przyjęty cel badań weryfikowano na podstawie:

- składu chemicznego oraz zawartości substancji antyodżywczych w ziarnie badanych gatunków i odmian zbóż,
- badań optymalnego rozdrobnienia oraz wpływu struktury fizycznej ziarna kukurydzy i żyta hybrydowego na rozkład w żwaczu i strawność jelitową białka i skrobi (badania *in vitro* i *in situ*),
- badań wpływu zamiany ziarna kukurydzy na ziarno żyta odmiany populacyjnej i mieszańcowej w dawkach pokarmowych dla owiec na przebieg procesów fermentacyjnych w żwaczu oraz strawność składników pokarmowych (badania modelowe na owcach przetokowanych do żwacza i dwunastnicy),
- badań wpływu hybrydowego ziarna żyta na wydajność krów mlecznych oraz na skład chemiczny i właściwości technologiczne mleka (badania *in vivo*).

3. Materiał i metody badań

Procedury badawcze wykonano zgodnie z Ustawą z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U. z 2019, poz. 1392, z 2021 r. poz. 36), z dyrektywą UE nr 2010/63/UE oraz protokołem badań zatwierdzonym przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie nr 224/2015.

3.1. Czynniki doświadczalne, etapy badań i materiał badawczy

Doświadczenia obejmowały trzy etapy badań (I, II i III), z których przygotowano 3 osobne publikacje naukowe. W każdym etapie wykonano niezbędne badania i analizy chemiczne oraz obliczenia i analizy statystyczne wraz z interpretacją merytoryczną uzyskanych wyników. Materiałem badawczym było ziarno żyta odmiany hybrydowej Brasetto, ziarno żyta odmiany hybrydowej Bono, ziarno żyta odmiany populacyjnej Dańkowskie Opal oraz ziarno kukurydzy odmiany Podium (mieszaniec trójliniowy) pochodzące z upraw prowadzonych na ternie Polski przez firmę KWS Lochow Polska Sp. z o.o.

Etap I badań

Wpływ metody rozdrobnienia ziarna żyta i kukurydzy na stopień i tempo rozkładu suchej masy, białka i skrobi w żwaczu oraz strawność jelitową białka i skrobi, które nie uległy rozkładowi w żwaczu. Publikacja nr 1.

W etapie I badań czynnikami doświadczalnymi były i/ gatunek zboża (ziarno żyta odmiany hybrydowej Brasetto, ziarno kukurydzy odmiany Podium) oraz ii/ struktura fizyczna ziarna (stopień rozdrobnienia ziarniaków). Uwzględniono następujące stopnie rozdrobnienia: całe ziarno, ziarno gniecione przy użyciu gniotownika ROmiLL S100 (BAG Polska, Krzemieniewo, Poland) oraz śrutę uzyskaną przy użyciu młynka Fritsch (FRITSCH GmbH, Idar-Oberstein, Niemcy), z zastosowaniem sit o średnicy oczek 4,0 mm lub 1,5 mm.

Badania strawnościowe *in sacco* przeprowadzono na krowach zasuszonych wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy; rozkład suchej masy, białka i skrobi w żwaczu oznaczono metodą woreczków nylonowych *in situ*, natomiast strawność jelitową składników pokarmowych oznaczono metodą woreczków mobilnych przepływających przez jelita. Badania strawnościowe *in vitro* przeprowadzono przy

użyciu metody oznaczania rzeczywistej strawności *in vitro* (ang. *In Vitro True Digestibility* - IVTD) w inkubatorze Daisy^{II} Incubator firmy Ankom (NY, USA) oraz metody oznaczania produkcji gazu *in vitro* (*Gas-test*) za pomocą zestawu do pomiaru ciśnienia firmy Ankom (NY, USA).

Etap II badań

Badania wpływu zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta na przemiany w żwaczu i strawność składników pokarmowych – badania in vivo na owcach. Publikacja nr 2.

W etapie II badań czynnikiem doświadczalnym był gatunek zboża (ziarno kukurydzy odmiany Podium; ziarno żyta odmiany populacyjnej Dańkowskie złote oraz ziarno żyta odmiany hybrydowej Brasetto). Materiał doświadczalny rozdrobniono przy użyciu urządzeń przemysłowych na śrutę z zastosowaniem sit o średnicy oczek 4,0 mm. Rozdrobnienie 4,0 mm wybrano na podstawie wyników uzyskanych w etapie I badań. Zamiana odmiany hybrydowej Brasetto na odmianę Bono (tej samej firmy) w etapie II wyniknęła z wycofania tej pierwszej odmiany z upraw doświadczalnych prowadzonych przez KWS Lochow Polska Sp. z o.o. Badania strawnościowe *in vivo* przeprowadzono na owcach wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy.

Etap III badań

Badania wpływu zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta odmiany hybrydowej na wydajność, skład chemiczny i przydatność technologiczną mleka - doświadczenie produkcyjne na krowach mlecznych. Publikacja nr 3.

W etapie III badań czynnikiem doświadczalnym był gatunek zboża (ziarno kukurydzy odmiany Podium, ziarno żyta odmiany hybrydowej Brasetto). W doświadczeniu użyto ziarna rozdrobnionego w urządzeniach przemysłowych z zastosowaniem sit o średnicy oczek 4,0 mm. Doświadczenie produkcyjne przeprowadzono na krowach mlecznych w pełnej laktacji, z uwzględnieniem indywidualnego pobrania pasz, pomiaru kondycji w skali BCS, wydajności i składu mleka oraz przydatności technologicznej mleka.

3.2. Metody badań

3.2.1. Zwierzęta doświadczalne

W etapie I badań oznaczenia współczynników strawności w żwaczu, jelitach oraz w całym przewodzie pokarmowym przy wykorzystaniu techniki woreczków nylonowych (*in sacco*) wykonano na trzech krowach rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (masa ciała ok. 610 ± 30 kg) utrzymywanych na indywidualnych stanowiskach ze stałym dostępem do wody w Stacji Doświadczalnej w Aleksandrowicach należącej do Instytutu Zootechniki - Państwowego Instytutu Badawczego (IZ-PIB) w Krakowie / Balicach. Zwierzęta posiadały trwale przetoki do górnego worka żwacza oraz do dwunastnicy. Od zwierząt doświadczalnych użytych w badaniach *in sacco* pobierano płyn żwacza do badań strawnościowych *in vitro* (IVTD i *Gastest*), zachowując minimum 2tygodniowy odstęp czasu pomiędzy badaniami.

W etapie II doświadczenia przeprowadzono na 6 skopach rasy polskiej owcy długowłnistej (masa ciała $40,7 \pm 4,7$ kg), utrzymywanych na indywidualnych stanowiskach ze stałym dostępem do wody w Stacji Doświadczalnej IZ-PIB w Aleksandrowicach koło Krakowa. Zwierzęta posiadały trwale przetoki do górnego worka żwacza oraz do dwunastnicy.

W etapie III badań doświadczenie produkcyjne wykonano na 16 krowach mlecznych w pełnej laktacji (masa ciała $645 \text{ kg} \pm 37 \text{ kg}$, produkcja mleka $34,4 \pm 5,4$ kg/dzień) utrzymywanych w oborze wolnostanowiskowej w Stacji Doświadczalnej Kosowo, należącej do Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Zwierzęta otrzymywały dawkę kompletną typu TMR (ang. Total Mixed Ration).

3.2.2. Badania *in sacco*

3.2.2.1. Rozkład składników pokarmowych w żwaczu

Oznaczenie rozkładu SM, BO i skrobi w żwaczu wykonano metodą woreczków nylonowych *in situ* opisaną przez Ørskov i McDonald (1979) z modyfikacjami wprowadzonymi przez Kowalskiego i in. (2008). Próbkę inkubowano w żwaczu przez 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 lub 72 godziny. Dla każdej badanej paszy przygotowywano po 3 (czas inkubacji 0, 2, 4, 8 i 16 godz.) lub po 6 woreczków (czas inkubacji 24, 48 i 72 godz.) na krowę. Po zakończonej inkubacji woreczki wyciągano ze żwacza i wstępnie płukano pod zimną, bieżącą wodą, a następnie zamrażano w temperaturze -20°C . Rozmrożone w laboratorium (w temperaturze pokojowej) woreczki płukano w pralce automatycznej (dwa cykle płukania w zimnej wodzie bez wirowania). Wypłukane woreczki suszono

przez 48 godzin w suszarce przewiewowej w temperaturze 60°C. Wysuszone i ostudzone w eksykatorze woreczki ważono na wadze analitycznej. Pozostałości po inkubacji dla każdej paszy, każdego czasu i każdego zwierzęcia łączono. W uzyskanych próbkach zbiorczych oznaczano zawartość suchej masy, białka ogólnego oraz skrobi. Na tej podstawie wyliczano efektywny rozkład w żwaczu (ERŻ) oraz stałe rozkładu A (rozpuszczalna frakcja składnika ulegająca natychmiastowemu rozkładowi w żwaczu), B (frakcja nierozpuszczalna, lecz potencjalnie ulegająca rozkładowi w żwaczu) oraz C (tempo rozkładu w żwaczu frakcji nierozpuszczalnej) (Ørskov i McDonald, 1979). W obliczeniach uwzględniano tempo wypływu treści ze żwacza wynoszące 6% na godzinę ($k=0,06$). Do obliczeń wykorzystano arkusz kalkulacyjny Excel dla Windows oraz procedury NLIN Marquardt programu SAS [SAS 2002. SAS/STAT User's Guide, release 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC].

3.2.2.2 Strawność składników pokarmowych w jelitach

Strawność jelitową (sjp) SM, BO i skrobi nie ulegających rozkładowi w żwaczu (*bypass*) oznaczono metodą woreczków przepływających przez jelita (ang. *mobile nylon bag technique*), według metodyki Peyraud i in. (1988), w modyfikacji Kowalskiego i in. (2008). Woreczki inkubowano w żwaczu przez 16 godzin. Po inkubacji płukano w zimnej bieżącej wodzie, a następnie inkubowano 2,5 godziny w łaźni wodnej w roztworze pepsyny i kwasu solnego (3 g pepsyny Sigma-Aldrich P-7000 539 U/mg w 1 litrze 0,1 n HCL, pH roztworu 2,0), w temperaturze 39°C. Po inkubacji w roztworze pepsyna – kwas solny woreczki płukano pod zimną, bieżącą wodą i wprowadzano do dwunastnicy przez przetokę dwunastniczą. Do dalszych etapów analizy kwalifikowano wyłącznie woreczki odzyskane w kale do 24 godzin od momentu umieszczenia w dwunastnicy.

W obliczeniach strawności jelitowej przyjęto wartości rozkładu składników pokarmowych w żwaczu po 16 godzinach inkubacji. Strawność jelitową SM, BO i skrobi nie ulegających rozkładowi w żwaczu obliczono według wzoru:

$$sjp = 100 \times (F \times (100 - R\dot{Z}_F) - F \times (100 - scppF)) / (F \times (100 - R\dot{Z}_F))$$

gdzie:

- F – zawartość składnika w SM (%),
- scppF – strawność składnika w całym przewodzie pokarmowym (%),
- $R\dot{Z}_F$ – rozkład składnika w żwaczu w czasie 16. godz. inkubacji (%).

3.2.2.3. Strawność w całym przewodzie pokarmowym

Strawność suchej masy, białka i skrobi zbóż w całym przewodzie pokarmowym (scpp) wyliczano wykorzystując wyniki uzyskane metodą *in sacco*, w której określono rozkład składników pokarmowych w żwaczu i strawność w jelitach (metoda woreczków mobilnych). Obliczenia scpp (%) przeprowadzono zestawiając zawartość SM, BO lub skrobi w próbce przed inkubacją w żwaczu oraz po odzyskaniu woreczków z kału.

3.2.3. Badania *in vitro*

3.2.3.1. Rzeczywista strawność *in vitro*

Rzeczywistą strawność *in vitro* (IVTD) badanych próbek oznaczono w aparacie Daisy^{II} Incubator metodą woreczków filtracyjnych F57 (ANKOM, NY, USA; Wilman i Adesogan, 2000). W każdym z czterech słoików aparatu Daisy^{II} Incubator umieszczano woreczki z próbkami, w tym jeden pusty w celu obliczenia współczynnika korekcji masy woreczków przed i po inkubacji. Woreczki z paszami inkubowano w buforowanym płynie żwacza przez 24 godziny w temperaturze 39°C. Po upływie tego czasu woreczki wyciągano i płukano pod zimną, bieżącą wodą. Następnie w pozostałości oznaczano zawartość włókna neutralno-detergentowego (NDF), przy użyciu aparatu Ankom²²⁰ Fiber Analyser (ANKOM, NY, USA).

Płynną i stałą frakcję treści żwacza pobierano zawsze od tych samych 2 krów przed porannym karmieniem przez kaniule żwaczowe. Po dostarczeniu do laboratorium pobraną treść żwacza poddawano homogenizacji a otrzymaną masę filtrowano przez poczwórnie złożoną gazę serowarską. Tak uzyskany płyn wlewano do każdego słoika aparatu Daisy^{II} Incubator w ilości 400 ml / słoik. W słoiku uprzednio umieszczano woreczki filtracyjne F57 oraz bufor (1600 ml / słoik) składający się z roztworów A i B (Wilman i Adesogan, 2000). Wszystkie zabiegi prowadzono w taki sposób, aby zachować temperaturę płynu żwacza na poziomie 39,0 ± 0,5°C.

Po zakończeniu inkubacji woreczki płukano pod bieżącą zimną wodą. Oczyszczone woreczki poddawano gotowaniu w neutralnym detergencie w aparacie Ankom²²⁰ Fiber Analyser (ANKOM, NY, USA). Po zakończeniu procedury woreczki suszono i ważono, a uzyskane wyniki podstawiano do wzoru:

$$IVTD = 100 - ((W_3 - (W_1 \times W_4)) \times 100) / W_2$$

gdzie:

IVTD – rzeczywista strawność *in vitro* suchej masy (%),

W₁ – masa woreczka (g),
W₂ – masa naważki (g),
W₃ – końcowa masa woreczka po oznaczeniu NDF (g),
W₄ – masa pustego woreczka (korekta) (g).

3.2.3.2. Metoda gazowa „gas-test”

W doświadczeniu wykorzystano zestaw do pomiaru ciśnienia gazu firmy ANKOM (Ankom^{RF} Gas production system, NY, USA). Doświadczenie przeprowadzono zgodnie z instrukcją dołączoną do zestawu (ANKOM, NY, USA). Do każdego modułu naważono po 0,5 ± 0,001 g badanego materiału. Następnie dodawano 100 ml buforu oraz 25 ml płynu żwacza. Bufor oraz płyn żwacza przygotowywano analogicznie do procedur opisanych w metodzie oznaczania rzeczywistej strawności *in vitro* (rozdział 3.2.3.1.). Przed zamknięciem każdy moduł wysycano dwutlenkiem węgla przez 30 s. Po uszczelnieniu moduły umieszczano w łaźni wodnej (39°C) na 24 godziny. W tym czasie urządzenie rejestrowało zmiany ciśnienia wewnątrz modułów. Ciśnienie mierzono w jednostkach psi (1 psi = 6894,76 Pa). Pomiar był dokonywany automatycznie co 15 minut i automatycznie zapisywany w arkuszu kalkulacyjnym Excel 2007 dla Windows. Po zakończeniu inkubacji moduły umieszczano w wodzie z lodem w celu zahamowania dalszych procesów trawiennych, a następnie zawartość modułów przesączano przez filtry (Munktell Discs Grade 388, Szwecja). Sączone osady suszono, ważono, a następnie poddawano analizie chemicznej na zawartość popiołu surowego (AOAC, 2005).

Uzyskane wyniki przeliczano z jednostek ciśnienia psi na jednostki objętości (ml) wg wzoru Tagliapietra i in. (2011):

$$GP24 = \left(\frac{\Delta P}{P_0} \right) \times V_0$$

gdzie:

GP24 – objętość gazu (ml) po 24-godzinnej fermentacji próbek *in vitro*,

ΔP – zmiana ciśnienia wewnątrz modułu (psi),

P₀ – ciśnienie atmosferyczne zmierzone przez urządzenie na początku doświadczenia (psi),

V₀ – wolna przestrzeń w module (ml).

Strawność *in vitro* masy organicznej (OMD) wyliczono korzystając z formuły zaproponowanej przez Menke i in. (1979):

$$\text{OMD} = 14,88 + 0,889 \cdot \text{GP200} + 0,45 \times \text{BO} + 0,065 \times \text{PS}$$

gdzie:

GP200 – produkcja gazu w czasie 24 godzinnej inkubacji, standaryzowana na 200 mg SM,

BO – zawartość białka ogólne w próbce (% SM),

PS – zawartość popiołu surowego w próbce (% SM).

3.2.4. Przemiany w żwaczu i strawność składników pokarmowych – badania *in vivo*

Badania wykonano w układzie powtórzonego kwadratu łacińskiego 3×3 na owcach (6 sztuk) wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy. Każdy okres doświadczenia trwał 17 dni i obejmował 10 dni adaptacji do doświadczalnych dawek pokarmowych i 7 dni kolekcji danych i prób badawczych. W trakcie doświadczenia podawano w drodze infuzji do żwacza (za pomocą pompy perystaltycznej) wskaźniki zewnętrzne (YbCl₃ i Cr-EDTA). Pomiędzy 10. a 14. dniem każdego okresu doświadczalnego wykonano całodobową kolekcję kału. Równoległe prowadzono całodobowy pomiar pH treści żwacza za pomocą rejestratorów pH (Dascor, Escodido, CA) umieszczonych w żwaczu. Pomiędzy 15. a 17. dniem każdego okresu doświadczenia pobrano próby płynu żwacza i treści dwunastniczej w celu określenia wpływu badanych czynników doświadczalnych na przemiany w żwaczu oraz strawność składników pokarmowych. Pobieranie próbek treści pokarmowej i kału oraz obliczenie strawności składników pokarmowych wykonano według procedury opisanej przez Górkę i in. (2017).

Pozorną strawność w całym przewodzie pokarmowym określano na podstawie wyników całkowitej kolekcji kału przeprowadzonej od 11 do 14 dnia każdego okresu doświadczenia wg metodyki zaproponowanej przez Pfister (1985).

Od 15 do 17 dnia każdego okresu pobierano 12 próbek treści pokarmowej z dwunastnicy - o godz. 06:00, 12:00, 18:00 i 00:00 w dniu 15, o godz. 04:00, 10:00, 16:00 i 22:00 w dniu 16 i o godz. 02:00, 08:00, 14:00 i 20:00 w dniu 17, jako reprezentatywne próby 24-godzinnej cyklu żywienia (Chibisa i in., 2012; Górka i in., 2017). W każdym z tych czasów pobierano próbki treści pokarmowej dwunastnicy w ilości 150-200 ml i przechowywano w temperaturze -20°C do czasu dalszych analiz.

Po pobraniu próbki treści pokarmowej z dwunastnicy, do żwacza przez kaniulę wprowadzano sondę (rurkę gumową pokrytą cienką metalową siatką) i pobierano 100 ml

płyn z brzuszno worka żwacza. Następnie mieszano 5 ml płynu ze żwacza z 1 ml kwasu metafosforowego (25% wag./obj.) oraz 4 ml płynu ze żwacza z 0,2 ml nasyconego roztworu HgCl₂. Próbkę płynu żwacza pobierano w opisanych wyżej godzinach, a z nich tworzono próbkę zbiorczą dla każdego zwierzęcia, osobno w każdym okresie doświadczenia. Próbkę płynu żwacza przechowywano w temp -20°C do czasu wykonania analiz na zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i amoniaku. Ponadto, od 11 do 13 dnia każdego okresu doświadczenia mierzono pH żwacza w worku brzuszno worka żwacza co 1 minutę za pomocą systemu do pomiaru pH żwacza (Dascor, Escodido, CA), zgodnie z opisem umieszczonym w pracy Penner i in. (2009).

3.2.5. Doświadczenie produkcyjne na krowach mlecznych

Doświadczenie przeprowadzono w gospodarstwie Kosowo k/Warszawy, należącym do Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Eksperyment wykonano na 16 krowach w pełnej laktacji (8 pierwiastek i 8 wieloródek), podzielonych metodą analogów na dwie grupy po 8 sztuk i utrzymywanych w oborze doświadczenia przez okres 9 tygodni (1 tydz. adaptacji zwierząt do warunków doświadczenia, 4 tyg. okresu wstępnego i 4 tyg. okresu właściwego badań). Krowy żywiono przy użyciu dwóch różnych izobiałkowych dawek pokarmowych, o zbliżonej wartości energetycznej, ustalonych dla średniej wydajności 34,4 kg mleka dziennie według systemu INRA (2007). Dawki pokarmowe typu TMR (Total Mixed Ration) sporządzano przy wykorzystaniu wozu paszowego SDR (Super Data Ranger, USA), który również służył do pomiaru masy niedojadów pozostawianych przez zwierzęta. Ziarno żyta odmiany hybrydowej Bono lub kukurydzy odmiany Podium (KWS Lochow Polska Sp. z o. o.) dodawano do TMR w stałej proporcji w mieszance treściwej, tak aby przy zakładanym pobraniu TMR codziennie pobranie żyta wynosiło 3,8, natomiast kukurydzy 3,7 kg/dz./sztukę. TMR zadawano na stół paszowy dwa razy dziennie (rano „i wieczorem”), niedojady zbierano i ważono raz dziennie przed porannym karmieniem zwierząt. Indywidualne pobranie pasz przez krowy w okresie właściwym badań rejestrowano codziennie przy pomocy systemu kontroli pobrania pasz RIC (Roughage Intake Control System, Insentec B.V., Holandia). Na podstawie indywidualnego pobrania oraz składu i wartości pokarmowej pasz i niedojadów obliczono pobranie suchej masy (DMI) i składników pokarmowych przez krowy.

Pomiar masy ciała oraz kondycji krów w skali BCS (Wildman i in., 1982) określono przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu doświadczenia. W trakcie badań pobierano

reprezentatywne próbki pojedynczych komponentów paszowych oraz TMR z każdej grupy oddzielnie. Raz w tygodniu tworzone próbki średnie TMR, osobno dla każdej grupy i przewożono do laboratorium w celu poddania ich analizie chemicznej. Codziennie monitorowano stan zdrowotny zwierząt oraz rejestrowano ilość mleka oddawanego przez krowy przy wykorzystaniu urządzeń zainstalowanych w hali udojowej typu „rybia ość”. Udój prowadzono 2 razy dziennie o godz. 5:00 i 17:00.

3.2.5.1. Pobieranie reprezentatywnych prób mleka

Pobieranie reprezentatywnych, indywidualnych (dla każdej krowy) prób mleka odbywało się raz w tygodniu (dój wieczorny/dój ranny) w okresie właściwym badań. Dodatkowo w ostatnim tygodniu okresu wstępnego badań pobrano próbki mleka celem określenia składu chemicznego i liczby komórek somatycznych. Próbki mleka przeznaczone do badań były reprezentatywnymi próbkami mleka dobowego, uzyskanymi poprzez zmieszanie schłodzonych do 4°C prób mleka z doju wieczornego i rannego, z uwzględnieniem ilości mleka z każdego z tych dojów (udział proporcjonalny). Próbki mleka w ilości 30-50 ml utrwalano konserwantem Microtabs i przechowywano w warunkach chłodniczych do czasu wykonania analiz składu chemicznego oraz liczby komórek somatycznych (LKS). Od każdej krowy pobierano także próbki mleka w ilości 20 ml i konserwowano przez zamrożenie (-20°C) w celu późniejszego oznaczenia składu AA białka oraz profilu kwasów tłuszczowych. W celu wykonania analiz frakcji białkowej mleka materiał pobierano indywidualnie od każdego zwierzęcia raz w tygodniu w okresie właściwym badań. Mleko pobierano do pojemników polipropylenowych o pojemności 50 ml, schładzano (4°C) i transportowano do miejsca dalszych analiz. W laboratorium z próbek indywidualnych tworzone próbki zbiorcze dla każdej grupy doświadczalnej w każdym tygodniu badań okresu właściwego. Dodatkowo, od każdej krowy pobierano mleko w ilości ok. 1 litra, które w stanie schłodzonym (4°C) transportowano do laboratorium w celu określenia jego przydatności technologicznej (badania prowadzono na mleku świeżym). Z indywidualnych próbek mleka świeżego w laboratorium tworzone próbki zbiorcze, osobno dla poszczególnych grup doświadczalnych i kolejnych tygodni badań. Mleko pobrane od wszystkich krów w każdej grupie łączono proporcjonalnie w stosunku do ilości mleka uzyskanego od każdej krowy. Pobór i transport próbek mleka były zgodne z PN-EN ISO 707 (2009).

3.2.6. Analizy chemiczne i testy laboratoryjne

3.2.6.1. Skład chemiczny pasz, niedojadów i treści pokarmowej

Analizy chemiczne indywidualnych pasz, mieszanek treściwych, TMR-ów, treści pokarmowej, kałów oraz niedojadów oznaczono w Katedrze Żywności, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa (KŻBZiR) Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Podstawowy skład chemiczny: suchej masy, popiołu, białka ogólnego, tłuszczu surowego (EE) i ADF oznaczano odpowiednio według procedur numer 934.01, 942.05, 976.05, 920.39 oraz 973.18 (AOAC, 2005). Zawartość NDF oznaczono z użyciem termostabilnej amylazy (Mertens, 2002), ADL metodą wg Robertsona i Van Soest (1981), natomiast zawartość skrobi metodą enzymatyczną (Faisant i in., 1995). Profil kwasów tłuszczowych określono przy użyciu chromatografu gazowego Varian 450-GC z detektorem FID, stosując kolumnę CP-SIL 88 (FAME, długość 100 m, średnica 0,25 mm).

Zawartość nieskrobiowych polisacharydów (NSP) oznaczono metodą chromatografii gazowej według Englysta i Cummingsa (1984) jako sumę cukrów: arabinozy, ksylozy, mannozy, galaktozy i glukozy. Określono także frakcje rozpuszczalną i nierozpuszczalną NSP oraz ich skład komponentowy metodą zaproponowaną przez Boros i in. (2015). Lepkość wodnych ekstraktów (WEV) mierzono metodą wg Boros i in. (1993), w której próbki ziarna ekstrahowano w wodzie destylowanej przy rozcieńczeniu 1:4 v/v, w temperaturze 30°C przez 60 minut. Otrzymaną zawiesinę wirowano przez 10 minut przy prędkości 10000 obr/min, a następnie mierzono lepkość przy użyciu lepkościomierza Brookefield (model LVDV-II+ Cone/Plate Digital Viscometer) w temperaturze 30°C, przy prędkości ścinania 225s. Oznaczanie całkowitej zawartości związków fenolowych (TPC) wykonano metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem reagentu Folin-Ciocalteu. Alkilorezorcynole najpierw ekstrahowano z pełnego ziarna, a następnie oznaczono metodą kolorymetryczną według Tłuscika i in. (1981), z użyciem soli diazoniowej Fast Blue B $ZnCl_2$ (Kulawinek i Kozubek, 2008).

Stężenie Yb (wskaźnik w badaniach strawnościowych) w treści pokarmowej dwunastnicy, próbkach kału i treści pokarmowej analizowano za pomocą ICP-OES przy użyciu instrumentu Perkin Elmer Optima 7300 DV po spopieleniu próbki w mieszaninie stężonego HNO_3 i $HClO_4$ (1:1,5; v/v) i obecności KCl (2 g/L). Profil kwasów tłuszczowych (KT) żwacza oznaczono w chromatografii gazowej (3400 CX; Varian Star, Palo Alto, CA) wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID),

opisanym przez Erwina i in. (1961), przy użyciu kolumny DB-FFAP (30 m × 0,5 mm; J&W Scientific, Folsom, CA) i argonu jako nośnika. Szybkość przepływu ustawiono na 4 ml/min, a temperatury kolumny, iniektora i detektora na 90–205°C, 200°C i 240°C, odpowiednio. Amoniak oznaczono w sposób opisany przez Conwaya (1962).

Wartość energetyczną (JPM) i białkową (BTJP, BTJN, BTJE) w paszach doświadczalnych oszacowano według równań zaproponowanych w systemie INRA (2007). Do szacowania wartości pokarmowej wykorzystano moduł PREVALIM 3.23 programu komputerowego INRAtion 3.3. W obliczeniach uwzględniono własne wyniki oznaczeń składu chemicznego badanych próbek, a także uzyskane w badaniach własnych wartości współczynników ERŻ i strawności jelitowej (sjp) ziarna żyta i kukurydzy.

3.2.6.2. Analizy i testy laboratoryjne mleka

Oznaczenie zawartości podstawowych składników mleka (białka, tłuszczu, laktozy i mocznika) wykonano w Laboratorium Oceny Jakości Mleka, Mięsa i Pasz IGiBZ PAN w Jastrzębcu przy użyciu aparatu MilkoScan-FT2 (Foss Analytical). Do oznaczenia zawartości komórek somatycznych w mleku wykorzystano urządzenie IBCM9 (Bentley Instruments).

Badania określające przydatność technologiczną mleka obejmowały: kwasowość miareczkową (metodą Soxhlet–Henkel; SH), czas krzepnięcia mleka pod wpływem podpuszczki (metodą Schern) oraz stabilność termiczną (metodą Crowley i Dowling, 2016). W celu określenia jakości tłuszczu mlecznego oznaczono punkt topnienia i krzepnięcia (wg PN-EN-ISO 6321:2004 i PN-A-86927:1961), liczbę kwasową (wg PN-EN ISO 660:2010) i liczbę nadtlenkową (wg PN-ISO 3976:2014-11). Przeprowadzono ocenę smakowości mleka poprzez określenie wyglądu i barwy, tekstury oraz smaku i zapachu mleka w próbie sensorycznej wg ISO 4121:2003. Dokonano również oceny mleka pod względem właściwości immunostymulujących (laktoferyna) oraz oznaczono jego skład chemiczny metodami laboratoryjnymi (AOAC, 2005).

Analizy obejmujące określenie zawartości białka ogólnego oraz poszczególnych frakcji białek mleka (kazeiny - alfa, beta, kappa; alfalaktoalbuminy, betalaktoglobuliny, albuminy serum, immunoglobuliny, wolne peptydy) wykonano w Laboratorium Katedry Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Rozdział

frakcji białkowych prowadzono metodą elektroforezy żelowej SDS-PAGE według metody Laemmli (1970).

Skład AA mleka oznaczono w KZBZiR UR w Krakowie przy wykorzystaniu analizatora aminokwasów AAA-400 (INGOS, Republika Czeska), pracującego z kolumną jonowymienną i derywatyzacją pokolumnową z ninhydriną. Wykorzystano metodę przygotowywania próbek mleka do analizy zgodną z metodą 994.12 AOAC (2005). W tym samym laboratorium oznaczono profil kwasów tłuszczowych (KT) metodą chromatografii gazowej przy użyciu aparatu Varian 450-GC (UK) z detektorem FID, stosując kolumnę CP-SIL 88 (FAME, długość 100 m, średnica 0,25 mm). Ekstrakcję tłuszczu przeprowadzono metodą według Folch i in. (1957) przy użyciu mieszaniny chloroform : metanol (2:1 v/v).

3.3. Analiza statystyczna danych

Do obliczeń wykorzystano arkusz kalkulacyjny Excel (2007) dla Windows (7) oraz procedury statystyczne programu SAS (SAS 2002. SAS/STAT User's Guide, release 9.4, SAS Inst., Inc., Cary, NC). Przed przystąpieniem do analiz statystycznych testowano normalność rozkładu danych za pomocą procedury PROC UNIVARIATE. Wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową lub dwuczynnikową analizę wariancji, test rozstępu oraz kontrasty ortogonalne. Efekty pomiędzy czynnikami doświadczalnymi uznawane za statystycznie istotne na poziomie $P < 0,05$, natomiast tendencje opisywano dla wartości $P < 0,10$.

Wyniki uzyskane w etapie I badań opracowano stosując dwuczynnikową analizę wariancji przy użyciu procedury PROC MIXED. Model statystyczny uwzględniał efekt gatunku zboża, struktury fizycznej ziarna (stopień rozdrobnienia ziarniaków) oraz interakcję pomiędzy tymi czynnikami, jako zmienne klasyfikujące. Jeśli interakcja pomiędzy czynnikami była statystycznie istotna, średnie rozdzielano za pomocą procedury PDIFF i testu rozstępu Duncan'a. Wyliczono zależności pomiędzy wybranymi wskaźnikami chemicznymi i strawnościowymi (regresja liniowa), stosując procedurę REG programu SAS.

Wyniki badań uzyskane w etapie II opracowano przy zastosowaniu jednoczynnikowej analizy wariancji, w której analizowanym czynnikiem był gatunek zboża. Dane analizowano w układzie kwadratu łacińskiego przy wykorzystaniu procedury PROC MIXED. Model statystyczny uwzględniał efekt stały gatunku zboża oraz efekt losowy okresu, powtórzenia i zwierzęcia w obrębie powtórzenia. Dla

pomiarów powtarzalnych w czasie (pomiar pH) wyniki analizowano w układzie pomiarów powtarzalnych. Dla weryfikacji hipotez badawczych zastosowano kontrasty ortogonalne w celu porównania wpływu na badane wskaźniki ziarna odmiany hybrydowej z ziarnem odmiany populacyjnej żyta oraz porównania wpływu ziarna żyta (niezależnie od odmiany) z ziarnem kukurydzy.

W etapie III badań wyniki opracowano w dwóch układach statystycznych. W pierwszym układzie zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji, w której analizowanymi czynnikami był okres (tydzień badań) oraz skład dawki pokarmowej (gatunek ziarna zbóż), a także interakcja pomiędzy tymi czynnikami. Układ ten stosowano w analizach dotyczących pobrania przez krowy SM (DMI) i składników pokarmowych oraz wydajności i podstawowego składu chemicznego mleka. Dane zredukowano do średnich z każdego tygodnia badań, a następnie analizowano przy wykorzystaniu procedury PROC MIXED. Analizowano również wpływ numery laktacji krów i jego interakcji z okresem badań i składem dawki pokarmowej, jednak wyniki te okazały się nieistotne i zostały usunięte z modelu. W drugim układzie statystycznym uwzględniano przydatność technologiczną mleka, skład AA białka i profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka. Analizowano dane uzyskane na mleku zbiorczym, z kolejnych tygodni laktacji, osobno dla każdej krowy, przy zastosowaniu jednoczynnikowej analizy wariancji (PROC GLM), z uwzględnieniem składu dawki pokarmowej (gatunku zboża) jako czynnika doświadczalnego.

4. Wyniki

Wyniki i osiągnięcia badawcze uzyskane w ramach niniejszej pracy doktorskiej przedstawiono w 3 pracach naukowych wchodzących w skład monotematycznego cyklu publikacji. Poniżej przedstawiono w formie skróconej jedynie najbardziej istotne ich fragmenty.

4.1. Wpływ metody rozdrobnienia ziarna żyta i kukurydzy na stopień i tempo rozkładu suchej masy, białka i skrobi w żwaczu oraz strawność jelitową białka i skrobi, które nie uległy rozkładowi w żwaczu - badania strawnościowe *in sacco* i *in vitro*

Wyniki opisane w podrozdziale 4.1. przedstawiono w pracy oryginalnej:

Rajtar P., Górka P., Schwarz T., Micek P. 2020. Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Annals of Animal Science*, 20 (3): 1065-1083.

W porównaniu z kukurydzą, ziarno żyta charakteryzowało się wyższą zawartością BO, NDF, ADF i ADL, natomiast niższą zawartością skrobi i EE (tabela 1). Niezależnie od stopnia rozdrobnienia ziarna, ERŻ suchej masy i składników pokarmowych ziarna żyta był wyższy niż ziarna kukurydzy (tabele 2-4). Rozdrobnienie całego ziarna żyta do śruty 1,5 mm spowodowało zwiększenie ERŻ BO z 15,9 do 83,8%. Współczynnik s_{jp} BO ziarna żyta nie przekroczył 67%, bez względu na użytą metodę i stopień rozdrobnienia ziarna. W przypadku kukurydzy ERŻ BO zwiększył się z 6,9% (całe ziarno) do 51,6% (śruta 1,5 mm), natomiast s_{jp} BO odpowiednio z 2,0 do 91,3%. Śruta kukurydziana 4,0 mm miała niższy ERŻ BO niż ziarno gniecione kukurydzy, odwrotnie niż miało to miejsce w przypadku ziarna żyta.

Skrobia ziarna żyta poddanego obróbce mechanicznej była prawie całkowicie trawiona w całym przewodzie pokarmowym zwierząt doświadczalnych (s_{c_{pp}} > 99%; tabela 3). W przypadku ziarna kukurydzy tak wysokie wartości współczynnika s_{c_{pp}} skrobi obserwowano jedynie dla śruty 1,5 mm (interakcja ziarno zbóż × rozdrobnienie ziarna P = 0,006). Efektywny rozkład w żwaczu skrobi ziarna żyta zwiększał się z 18,3% (całe ziarno), przez 25,3% (śruta 4,0 mm) i 50,5% (ziarno gniecione) do 96,0% (śruta 1,5 mm). Maksymalną wartość ERŻ skrobi ziarna kukurydzy (57,5%) odnotowano dla śruty 1,5 mm, przy czym na podkreślenie zasługuje wyższy ERŻ skrobi ziarna śrutowanego 4,0 mm niż ziarna gniecionego (odpowiednio 50,5 i 36,9%; P < 0,01).

Strawność jelitowa skrobi ziarna żyta zwiększała się z 56,4 (całe ziarno) do 100% (śruta 1,5mm), natomiast ziarna kukurydzy odpowiednio z 19,9 do 98,0%.

Niezależnie od gatunku ziarna, najniższe wartości GP24, OMD i IVTD obserwowano dla całego ziarna, przy czym, za wyjątkiem GP24, ziarno żyta charakteryzowało się wyższą wartością tych wskaźników niż ziarno kukurydzy (tabela 5). W przypadku ziarna żyta nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w GP24, OMD i IVTD pomiędzy ziarnem gniecionym i śrutą 4,0 mm, natomiast najwyższe wartości analizowanych wskaźników uzyskano dla śruty 1,5 mm. Ziarno kukurydzy śrutowanej 4,0 mm charakteryzowało się wyższymi niż ziarno gniecione wartościami GP24, OMD i IVTD (interakcja gatunek zboża × rozdrobnienie ziarna, $P < 0,01$), odwrotnie niż miało to miejsce w przypadku żyta.

4.2. Wpływ zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta na przemiany w żwaczu i strawność składników pokarmowych – badania modelowe *in vivo* na owcach

Wyniki opisane w podrozdziale 4.2 przedstawiono w pracy oryginalnej:

Rajtar P., Górka P., Śliwiński B., Wieczorek J., Boros D., Micek P. 2021. *Effect of rye grain derived from different cultivars or maize grain use in the diet on ruminal fermentation parameters and nutrient digestibility in sheep. Annals of Animal Science, 21 (3): 959-976.*

Zastosowanie w dawce pokarmowej dla owiec ziarna żyta odmiany populacyjnej lub hybrydowej w miejsce ziarna kukurydzy nie spowodowało zmiany DMI paszy oraz zmiany sumy zawartości lotnych kwasów tłuszczowych w płynie żwacza (tabela 3). U zwierząt otrzymujących dawkę pokarmową z udziałem ziarna kukurydzy odnotowano jedynie większy udział kwasu walerianowego w sumie LKT ($P = 0,02$), bez różnic pomiędzy grupami zwierząt, u których stosowano ziarno różnych odmian żyta. Skarmianie ziarna kukurydzy skutkowało wyższym średnim i minimalnym pH żwacza ($P < 0,01$) oraz niższym odchyleniem standardowym pH żwacza, w porównaniu z grupami zwierząt otrzymującymi ziarno żyta ($P < 0,01$). Nie obserwowano różnic w pH płynu żwacza między grupami doświadczalnymi otrzymującymi ziarno różnych odmian żyta.

Nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami badawczymi w pobraniu, przepływie treści pokarmowej i składników pokarmowych do dwunastnicy, strawności składników pokarmowych do dwunastnicy (w całym żołądku), sjp oraz scpp masy organicznej,

białka, NDF i ADF (tabela 4). Statystycznie różnice pomiędzy grupą zwierząt otrzymującą ziarno kukurydzy a grupami otrzymującymi ziarno żyta (niezależnie od odmiany) uzyskano dla takich wskaźników jak pobranie skrobi ($P < 0,01$; odpowiednio 179 vs. 157 g/d), przepływ skrobi do dwunastnicy ($P = 0,02$), trawienie skrobi w odcinku przewodu pokarmowego do dwunastnicy ($P = 0,04$) oraz ilość skrobi strawionej w jelitach ($P = 0,04$). Nie obserwowano różnic pomiędzy grupami badawczymi w scpp skrobi, ponieważ składnik ten ulegał prawie całkowitemu strawieniu.

4.3. Badania wpływu zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem żyta odmiany hybrydowej na wydajność, skład chemiczny i przydatność technologiczną mleka - doświadczenie produkcyjne na krowach mlecznych

Wyniki opisane w podrozdziale (4.3) przedstawiono w pracy oryginalnej:

Rajtar P., Sady M., Górka P., Kehoe S., Micek P. 2022. Effect of replacing maize grain by hybrid rye grain in TMR on performance of mid-lactating dairy cows. *Annals of Animal Science* 22 (1): 237-254.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami badawczymi w DMI przez krowy. W porównaniu do grupy doświadczalnej (z żytem), zwierzęta z grupy kontrolnej (z kukurydzą) pobierały średnio o ok. 0,5 kg suchej masy paszy więcej ($P > 0,05$; tabela 3.). Średnia wydajność mleka krów wynosiła 27,26 i 28,61 kg/dzień (tabela 4), odpowiednio dla grupy żywionej z udziałem ziarna żyta hybrydowego lub ziarna kukurydzy i nie różniła się między grupami. W grupie kontrolnej obserwowano istotnie większe pobranie tłuszczu surowego ($P < 0,01$) i skrobi ($P = 0,05$), ze względu na większą zawartość tych składników w ziarnie kukurydzy w porównaniu z ziarnem żyta (tabela 2.).

Mleko pochodzące od krów z grupy doświadczalnej miało nieznacznie wyższą zawartość białka i tłuszczu ($P > 0,05$), przez co charakteryzowało się numerycznie wyższą ($P = 0,19$) zawartością suchej masy, w stosunku do mleka z grupy kontrolnej. Nie wykazano istotnego wpływu interakcji składu dawki pokarmowej i czasu (tygodnia) prowadzenia badań na żaden z parametrów pobrania składników pokarmowych przez krowy lub składu chemicznego mleka, poza zawartością tłuszczu i mocznika w mleku. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami badawczymi w profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka (tabela 5). Zwraca jednak uwagę numerycznie wyższa suma nienasyconych kwasów tłuszczowych ($P = 0,09$), natomiast niższa zawartość C14:0

($P = 0,09$) oraz C16:0 ($P = 0,05$) w mleku pochodzącym od krów żywionych z udziałem ziarna żyta. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami badawczymi w zawartości AA w mleku (tabela 6).

Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu dawki pokarmowej na kwasowość miareczkową mleka, czas krzepnięcia podpuszczkowego, stabilność termiczną oraz parametry jakościowe tłuszczu mlekowego (liczbę kwasową, nadtlenkową oraz temperaturę topnienia i krzepnięcia; tabela 7). Mleko pochodzące od krów żywionych z udziałem ziarna żyta charakteryzowało się wyższą ogólną oceną sensoryczną mleka ($P = 0,02$) oraz konsystencją ($P = 0,03$) i smakiem ($P = 0,01$). Zastosowanie dawki pokarmowej z udziałem ziarna żyta spowodowało istotne zmiany ($P < 0,05$) w składzie frakcji białkowych mleka. W stosunku do grupy kontrolnej, w mleku pochodzącym od krów z grupy doświadczalnej odnotowano większą zawartość α -kazeiny ($P < 0,01$) i κ -kazeiny ($P = 0,02$), natomiast mniejszą zawartość β -kazeiny ($P = 0,02$) oraz immunoglobulin ($P < 0,01$) i wolnych peptydów ($P < 0,01$).

5. Dyskusja

5.1. Rozkład w żwaczu i strawność jelitowa składników ziarna żyta i kukurydzy

Białko i skrobia należą do podstawowych składników odżywczych w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych (Santos i in., 1999). W żywieniu wysoko wydajnych przeżuwaczy ważna jest nie tylko zawartość tych składników, ale również efekt ich wzajemnej synchronizacji w stopniu i tempie rozkładu w żwaczu. W praktyce oznacza to konieczność dopasowania rozkładu białka pochodzenia paszowego do rozkładu skrobi w żwaczu w celu zapewnienia odpowiednich ilości azotu i energii dla syntezy białka mikroorganizmów (Zhang i in., 2020). Zapewnienie właściwej synchronizacji podaży tych składników do żwacza oznacza zwiększenie dopływu białka mikroorganizmów do dwunastnicy i poprawę wyników produkcyjnych zwierząt (Petri i in., 2021). W żywieniu przeżuwaczy ziarno zbóż stanowi przede wszystkim źródło energii ze względu na wysoką zawartość skrobi. Składnik ten jest jednak rozkładany w żwaczu w różnym stopniu a tempo jego rozkładu różni się znacząco w zależności od gatunku zboża i stopnia rozdrobnienia ziarniaków (Lykos i Varga, 1995).

Głównym celem obróbki mechanicznej ziarna zbóż przed skarmianiem jest uszkodzenie okrywy owocowo-nasiennej występującej na zewnątrz ziarniaków. Zabieg ten zwiększa dostęp mikroorganizmów żwacza do skrobi, a tym samym zwiększenia jej strawność. W zależności od właściwości fizycznych ziarna (np. grubości owocni) i podatności skrobi na fermentację, optymalne rozdrobnienie ziarna może się różnić w zależności od jego pochodzenia. Wykazano, że nawet pomiędzy różnymi odmianami tej samej rośliny uprawnej mogą występować istotne różnice w podatności skrobi na rozkład w żwaczu (Philippeau i Michalet-Doreau, 1998; Micek, 2008). Biorąc pod uwagę fakt, że każdego roku na rynku pojawiają się nowe odmiany roślin uprawnych (np. odmiany hybrydowe żyta), istnieje stała potrzeba prowadzenia badań monitoringowych, umożliwiających ich ocenę pod kątem wartości odżywczej i przydatność w żywieniu różnych gatunków zwierząt.

W badaniach własnych skrobia ziarna żyta odmiany hybrydowej ulegała znacznemu rozkładowi w żwaczu ($ER\dot{Z} > 85\%$), niezależnie od zastosowanej metody rozdrabniania ziarniaków. Wyniki te były zbieżne z obserwacjami innych autorów, którzy wykazali szybki rozkład składników ziarna żyta w żwaczu, w szczególności skrobi (Micek, 2008; Krieg i in., 2017). Potwierdzono także wyniki wcześniejszych badań (Philippeau i in., 1999; Rémond i in., 2004; Svihus i in., 2005), stwierdzających niewielkie tempo rozkładu

skrobi kukurydzianej w żwaczu i jej zwiększony przepływ do jelit. Według McAllister i in. (1993) obniżone tempo rozkładu skrobi kukurydzianej może być efektem obecności w ziarniakach tego gatunku specyficznych sieci białkowych okalających granule skrobi w bielmie oraz węglowodanów strukturalnych. Inni autorzy (np. Nikokyris i Kandyliis, 1997) wskazują na istotny wpływ także zawartości niektórych białek (np. albumin, globulin czy prolamin) oraz ich rozmieszczenia w bielmie, co determinuje twardość ziarna (Micek, 2008) i pośrednio wpływa na podatność białka na fermentację mikrobiologiczną (Seifried i in., 2016), skutkującą różnicami w tempie rozkładu skrobi w żwaczu (Svihus i in., 2005; Krieg i in., 2017).

W pracach McAllister i in. (1993) oraz Krieg i in. (2017) wykazano istotne interakcje struktur matrycy białkowej z granulkami skrobi oraz określono zależność pomiędzy właściwościami białek ziarna zbóż i różnicami w tempie rozkładu ich skrobi w żwaczu. W badaniach własnych prowadzonych metodą *in situ* tempo rozkładu BO w żwaczu miało trend podobny do tempa rozkładu skrobi. Potwierdzono wysoką korelację pomiędzy ERŻ skrobi a ERŻ BO ($r = 0,995$) sugerowaną przez innych autorów (Svihus i in., 2005; Krieg i in., 2017) oraz wąską zależność pomiędzy podatnością białka i skrobi na fermentację w żwaczu. Crowe i in. (2000) w oparciu o wyniki badania *in vitro* sugerują, że ważnym czynnikiem ograniczającym rozkład skrobi w żwaczu może być interakcja pomiędzy amylozą a zawartością kwasów tłuszczowych w ziarniakach. Rzeczywiście, ponad trzykrotnie wyższa zawartość tłuszczu w ziarnie kukurydzy, w porównaniu do żyta (w badaniach własnych 54,6 vs. 16,1 g/kg SM, odpowiednio dla ziarna kukurydzy i żyta) może w pewnym stopniu tłumaczyć obniżoną podatność skrobi kukurydzianej na rozkład w żwaczu.

Wysoka zawartość NSP w ziarnie żyta oraz cukrów prostych i dwucukrów może przyczyniać się do podwyższania podatności ziarna tego gatunku zboża na fermentację w żwaczu. Według Andersson i in. (2014) zawartość fruktanów w ziarnie żyta jest od czterech do dziesięciu razy wyższa niż w ziarnie pszenicy. W badaniach własnych wykazano obecność w ziarnie żyta znacznych ilości związków fenolowych i polisacharydów rozpuszczalnych w wodzie, które również mogą modyfikować dostępność w żwaczu składników pokarmowych. Obecność tych związków w ziarnie i ich wpływ na strawność żwaczową żyta wymaga jednak dalszych, szczegółowych badań.

Według Autorki niniejszego opracowania opisane wyżej czynniki, przede wszystkim zawartość i skład białek i tłuszczu, oprócz właściwości fizyko-chemicznych samej skrobi (wielkość granul, udział amylozy i amylopektyny itp.) i węglowodanów towarzyszących, należy uznać za podstawową przyczynę różnic pomiędzy ziarnem kukurydzy i żyta, obserwowanych w efektach stosowania różnych metod obróbki mechanicznej ziarniaków. Dlatego też dużo większy wpływ fizycznego przetwarzania ziarniaków na wskaźniki rozkładu w żwaczu obserwowano w przypadku ziarna kukurydzy niż ziarna żyta. Z tego powodu uznano, że ziarno kukurydzy wymaga bardziej intensywnej obróbki mechanicznej, niezbędnej do zniszczenia trwałych wiązań chemicznych występujących pomiędzy składnikami ziarna w celu zapewnienia dostępu do nich mikroorganizmów żwacza.

Rozdrabnianie ziarna zbóż jest zabiegiem koniecznym dla zniszczenia twardej okrywy owocowo-nasiennej ziarniaków i poprawy ich strawności. Jednak u przeżuwaczy nadmierna fermentacja skrobi w żwaczu może prowadzić do zaburzeń trawiennych prowadzących do kwasicy żwacza (Plaizier i in., 2009). Intensywne rozdrabnianie ziarniaków zwiększa niekorzystnie stopień i tempo fermentacji skrobi w żwaczu (Bertipaglia i in., 2010), przyczyniając się do nadmiernej produkcji kwasów organicznych. Mając na uwadze wyżej opisane problemy, w niniejszych badaniach postanowiono sprawdzić, w jakim zakresie wielkość oczek sit użytych przy śrutowaniu lub zabieg gniecenia mogą wpływać na wskaźniki rozkładu w żwaczu i strawność jelitową składników ziarna żyta i kukurydzy. Wykazano, że w przypadku ziarna żyta lepszą metodą jego rozdrabniania jest śrutowanie z użyciem sit 4,0 mm niż gniecenie. W stosunku do ziarna śrutowanego (4,0 mm) zabieg gniecenia powodował niekorzystne zwiększenie efektywnego rozkładu w żwaczu SM, BO i skrobi, przy czym było to powodowane zwiększeniem udziału ich frakcji A (w przypadku SM i BO) lub zwiększeniem stałej C (tempa rozkładu) w przypadku skrobi. Obserwowano również wyższe wartości wskaźników GP24, OMD i IVTD.

Wyższe wartości ERŻ SM, BO i skrobi uzyskane dla ziarna żyta gnieczonego, w porównaniu ze śrutowanym 4,0 mm, są trudne do wytłumaczenia. Przyjęto hipotezę, że może wynikać to z bardziej efektywnego łamania (niszczenia struktury fizycznej) ziarna w trakcie zabiegu gniecenia niż ma to miejsce przy śrutowaniu z zastosowaniem sita 4,0 mm. Biorąc pod uwagę średnicę ziarna żyta ($\approx 3-4$ mm), niektóre ziarniaki mogły przechodzić przez sito 4,0 mm rozdrobnione tylko w niewielkim stopniu podczas, gdy

nawet krótsze fragmenty ziarna gniecionego (rycina 3, publikacja nr 1) były uszkodzone mechanicznie. Potwierdzają to także wyniki badań śruty 1,5 mm, która ze względu na małą średnicę zastosowanych sit charakteryzowała się wysokim stopniem rozdrobnienia i najwyższymi wartościami wskaźników ERŻ. Zatem mniej intensywna obróbka mechaniczna ziarniaków zmniejsza stopień i tempo rozkładu ziarna żyta w żwaczu, bez pogorszenia jego strawności jelitowej.

W żywieniu przeżuwaczy, zwłaszcza bydła, najwięcej kontrowersji budzi stosowanie całego ziarna żyta. Na ten temat w dostępnej literaturze nie ma zbyt wielu informacji. Wyniki przeprowadzonego doświadczenia wskazują, że stosowanie całego ziarna żyta lub kukurydzy drastycznie ogranicza dostępność ich składników pokarmowych w żwaczu i jelitach. W efekcie ograniczeniu ulega strawność SM i składników pokarmowych w całym przewodzie pokarmowym, co może powodować negatywne skutki produkcyjne u zwierząt. O ile stosowanie całego ziarna kukurydzy w żywieniu bydła wydaje się całkowicie nieracjonalne (za wyjątkiem mieszanek starterowych dla cieląt), o tyle przeprowadzone doświadczenie z udziałem zwierząt przetokowanych do żwacza i dwunastnicy nie daje wystarczającej odpowiedzi odnośnie zasadności stosowania całego ziarna żyta odmian hybrydowych. Dlatego w badaniach własnych przyjęto założenie, że umiarkowane rozdrobnienie ziarna żyta (np. poprzez śrutowanie 4,0 mm) może być zabiegiem preferowanym przy praktycznym żywieniu bydła z udziałem ziarna tego gatunku zboża. Jednak w badaniach produkcyjnych przeprowadzonych w Katedrze Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie z udziałem krów mlecznych w pełnej laktacji (Micek i in., 2019) wykazano, że zastosowanie ziarna żyta odmiany hybrydowej (Bono) w miejsce ziarna żyta odmiany populacyjnej (Dańkowskie opal, śruta 4,0 mm) spowodowało wzrost produkcji mleka średnio o 1,38 kg/dz./szt., niezależnie od stopnia rozdrobnienia ziarniaków (śruta 4,0 mm lub całe ziarno).

Odwrotną niż dla ziarna żyta zależność pomiędzy śrutą 4,0 mm a gniecieniem uzyskano dla ziarna kukurydzy. Zabieg gniecienia ziarniaków tego gatunku powodował zmniejszenie zarówno ERŻ jak i tempa (stałej C) rozkładu w żwaczu SM, BO i skrobi w stosunku do zabiegu śrutowania 4,0 mm. Analizując uzyskane wskaźniki korzystne wydaje się zmniejszenie ich wartości ze względu na przesunięcie miejsca trawienia białka i skrobi ze żwacza do jelit, jednak zwraca uwagę znaczące obniżenie strawności tych składników w całym przewodzie pokarmowym. W praktyce zmniejszenie dostępności

składników pokarmowych ziarna kukurydzy może powodować konieczność uzupełniania dawek pokarmowych wysoko wydajnych przeżuwaczy innymi paszami treściwymi, co nie jest uzasadnione ekonomicznie. Dlatego uznano, że zabieg śrutowania ziarna kukurydzy z udziałem sit 4,0 mm jest bardziej korzystny niż jego gniecenie.

Powyższe wnioski są zgodne z wynikami badań Philippeau i in., (1999), którzy wykazali, że rozkład skrobi w żwaczu ziarna gniecionego kukurydzy był niższy niż śruty. Wyższemu ERŻ skrobi towarzyszyła wyższa zawartość frakcji A i wyższe tempo rozkładu tego składnika. Podobnie Knowlton i in. (1998) wykazali, że ześrutowane na 6,4 mm ziarno kukurydzy ma wyższy wskaźnik trawienia skrobi *in vitro* niż ziarno walcowane. Z drugiej strony Rémond i in., (2004) wykazali, że niewystarczające rozdrabnianie ziarna kukurydzy może skutkować zmniejszeniem strawności skrobi w żwaczu i równolegle niekorzystnym zmniejszeniem jej strawności w jelicie cienkim u bydła. Wydaje się to o tyle istotne, że teoretycznie enzymatyczny rozkład skrobi w jelicie cienkim dostarcza dla zwierząt znacznie więcej energii niż jej fermentacja w żwaczu do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (Offner i Sauvant, 2004). Zatem miejsce trawienia skrobi w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy ma istotny wpływ na wyniki produkcyjne u bydła mlecznego i mięsnego. Sposób obróbki fizycznej ziarna kukurydzy przed skarmianiem powinien być więc uwzględniany na etapie formułowaniu składu dawek pokarmowych dla przeżuwaczy.

Do scharakteryzowania podatności na rozkład w żwaczu składników pasz powszechnie stosuje się technikę woreczków nylonowych *in situ*. W technice tej małe cząsteczki pasz (np. granulki skrobi rozdrobnionego ziarna zbóż) mogą wpływać z woreczków, bez ich trawienia przez drobnoustroje żwacza. Dane dostarczone przez Offnera i Sauvant (2004) sugerują, że technika *in situ* zaniża wyniki rozkład skrobi w żwaczu dla wolno rozkładających się źródeł skrobi, takich jak kukurydza, natomiast zawyża wartości dla źródeł skrobi szybko ulegających rozkładowi, takich jak żyto. Z tego powodu zasadne wydaje się stosowanie kilku różnych metod, aby w pełni scharakteryzować wartość odżywczą i przydatność paszową ziarna zbóż dla przeżuwaczy. W badaniach własnych obserwowano wysoką korelację pomiędzy ERŻ SM i GP24 lub OMD (odpowiednio $r = 0,92$ i $r = 0,93$), co sugeruje, że techniki *in vitro* mogą być wykorzystywane w badaniach strawnościowych prawie z taką samą skutecznością jak metoda *in situ*. Na podkreślenie zasługują jednak ujemne wartości skumulowanej produkcji gazu GP24 z próbek całego (nierozdrobnionego) ziarna

kukurydzy i żyta. Podobne zjawisko obserwowali również Araujo i in., (2011). W niniejszej pracy przyjęto hipotezę, że łatwo rozkładająca się frakcja substancji organicznej zawarta w buforowanym płynie żwacza słoików z całym ziarnem kukurydzy lub żyta została prawdopodobnie całkowicie zużyta przez mikroorganizmy w ciągu pierwszych 8 godzin inkubacji. Następnie w trakcie następnych 16 godzin inkubacji ilość wytwarzanego gazu stopniowo malała, nawet poniżej wartości obserwowanych dla prób ślepych. Oznacza to, że po 14 godzinach inkubacji produkcja gazu w próbkach zawierających całe ziarno żyta lub kukurydzy była niższa niż w próbach ślepych zawierających tylko buforowany płyn żwacza. Ten niezrozumiały biologicznie efekt jest niejasny i trudny do wyjaśnienia, jednak postawiono hipotezę, że zmniejszenie produkcji gazu w słoikach z całym ziarnem może sugerować, że nieprzetworzone ziarno zbóż wpływa ograniczająco na fermentację materii organicznej, która nie pochodzi tylko z substratu, ale także z inokulum.

W porównaniu z metodą *in situ* techniki GP24 i IVTD są łatwiejszymi i mniej czasochłonnymi technikami szacowania strawności pasz. Jednakże, IVTD wydaje się być mniej przydatną metodą różnicowania wpływu przetwarzania ziarna na jego rozkład w żwaczu. Według Mabweesh i in. (2000) użycie tej metody jest ograniczone do pasz, które nie zawierają wysokiego udziału małych cząsteczek mogących być wypłukiwane z woreczków podczas inkubacji. Taka sytuacja występuje m.in. przy nadmiernej obróbce mechanicznej ziarna zbóż, które stają się mączyste i w ten sposób zwiększa się ich wpływ przez pory. Dlatego uważa się, że w metodzie IVTD intensywność rozdrobnienia ziarna oddziałuje z wielkością porów woreczków i ma wpływ na stopień zaniku (ubytku) paszy. W rezultacie różnice pomiędzy metodami przetwarzania ziarna można w dużej mierze wytłumaczyć różnicami w końcowej wielkości cząstek próbki, co ma również znaczenie w przypadku metody *in situ*. Ta ostatnia metoda mierzy jednak ubytek składników pokarmowych z woreczków w czasie, a to wpływa na ostateczny wynik rozkładu paszy. Zatem kryterium czasowe jest dużo bardziej istotne w przypadku metody *in situ*, w której straty składników pokarmowych z woreczków w wyniku wypłukiwania są uważane za czas inkubacji „0” a włączanie różnych czasów inkubacji do obliczeń umożliwia pomiar tempa trawienia składników pokarmowych. W tym kontekście 24-godzinny czas inkubacji zastosowany w badaniach IVTD wydaje się być wystarczający do porównywania stopnia trawienia ziarna zbóż, jednak ostateczne wyniki są obciążone błędem z powodu potencjalnego wydostawania się niestrawionego materiału z

woreczków. Zastosowanie 48-godzinnej czasu inkubacji, zamiast 24-godzinnej, skutkuje prawie całkowitym rozkładem badanych próbek.

Podsumowując, im większy jest stopień rozdrobnienia ziarna żyta i kukurydzy, tym wyższy jest rozkład w żwaczu i strawność jelitowa ich skrobi. Jednak skrobia i BO ziarna żyta są bardziej podatne na fermentację w żwaczu niż ziarno kukurydzy, a sposób przetwarzania ziarna może mieć wpływ na miejsce i stopień ich rozkładu w przewodzie pokarmowych przeżuwaczy. Poprzez stosowanie odpowiednich metod i sposobów rozdrabniania ziarna zbóż można wpływać na jego rozkład w żwaczu i strawność jelitową. W tym zakresie dużo większe różnice pomiędzy metodami obróbki mechanicznej uzyskuje się w przypadku rozdrabniania ziarna kukurydzy niż ziarna żyta.

5.2. Wskaźniki fermentacji w żwaczu i strawność składników pokarmowych u owiec żywionych z udziałem ziarna kukurydzy lub ziarna różnych odmian żyta

W badaniach modelowych na owcach postawiono hipotezę, że wskaźniki fermentacji ziarna żyta w żwaczu i strawność jego składników pokarmowych różnią się w zależności od typu użytej odmiany. W badaniach uwzględniono jedną odmianę (Bono) zaliczaną do grupy odmian hybrydowych (mieszańcowych) oraz jedną odmianę populacyjną (Dańkowskie opal) zaliczaną do odmian tzw. tradycyjnych (populacyjnych). Dodatkowo, w badaniach umieszczono grupę żywioną dawką pokarmową z udziałem ziarna kukurydzy. Grupę tę uwzględniono w układzie doświadczenia w celu lepszego zobrazowania różnic pomiędzy źródłami skrobi ulegającej szybkiej (ziarno żyta) lub wolnej fermentacji w żwaczu (ziarno kukurydza). Różnice w zawartości BO pomiędzy eksperymentalnymi dawkami pokarmowymi wyrównywano przy użyciu poekstrakcyjnej śruty sojowej. W konsekwencji zastosowane w doświadczeniu dawki pokarmowe charakteryzowały się zbliżoną zawartością BO, jednak różniły pod względem koncentracji skrobi i NDF. Większą zawartość skrobi i mniejszą zawartość NDF w dawce pokarmowej stwierdzono w grupie zwierząt otrzymujących ziarno kukurydzy w stosunku do obu grup żywionych z udziałem ziarna żyta. Pomimo opisanych niedogodności zastosowany model eksperymentalny pozwalał na zobrazowanie ogólnych różnic między ziarnem kukurydzy i żyta pod względem przebiegu fermentacji w żwaczu i strawności składników pokarmowych, a w szczególności pomiędzy badanymi odmianami żyta. Na podkreślenie zasługuje zwłaszcza fakt, że koncentracja skrobi (a także NFC –

węglowodanów niewłóknistych) nie różniła się istotnie pomiędzy grupami otrzymującymi ziarno żyta odmiany hybrydowej lub populacyjnej.

Wyniki wielu badań wykazały, że skrobia kukurydziana ma powolne tempo fermentacji i niski stopień degradacji w żwaczu, podczas gdy skrobia pszenna, jęczmienna i żytnia ulega szybkiej i intensywnej fermentacji (Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017; Rajtar i in., 2020). Te różnice pomiędzy ziarnem kukurydzy i żyta potwierdzono w ramach niniejszej pracy, na co wskazuje niższy współczynnik strawności skrobi w odcinku przewodu pokarmowego do dwunastnicy, wyższy współczynnik strawności tego składnika w jelitach, a także wyższe pH płynu żwacza u zwierząt żywionych dawką pokarmową z udziałem ziarna kukurydzy. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zwierzęta żywione z udziałem ziarna kukurydzy miały wyższe pH płynu żwacza pomimo tego, że pobierały dawkę pokarmową zawierającą więcej skrobi a tym samym pobranie tego składnika było większe w porównaniu do pozostałych grup doświadczalnych.

Odczyn (pH) płynu żwacza zależy od intensywności syntezy i wchłaniania lotnych kwasów tłuszczowych, ilości wydzielanej śliny zawierającej składniki buforujące oraz składu paszy (Allen, 1997). Chociaż w badaniach własnych obserwowano obniżone pH w żwaczu u zwierząt żywionych ziarnem żyta, to jednak stężenie lotnych kwasów tłuszczowych w płynie żwacza nie różniło się pomiędzy grupami doświadczalnymi. Jedyną zauważoną różnicą były większe udziały kwasu walerianowego i izowalerianowego w sumie lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu u zwierząt żywionych ziarnem kukurydzy. Różnice te mogły wynikać z większego pobrania skrobi przez zwierzęta żywione z udziałem kukurydzy. Warto bowiem wspomnieć, że kwas walerianowy i izowalerianowy powstają w żwaczu w wyniku metabolizmu AA prowadzonego przez drobnoustroje. Różnice w tempie i stopniu fermentacji ziarna kukurydzy i żyta w żwaczu prawdopodobnie wpłynęły zarówno na rozkład białka paszowego, jak i na syntezę białka mikroorganizmów. Co istotne, zarówno udział molowy kwasu walerianowego jak i izowalerianowego w sumie lotnych kwasów tłuszczowych nie różnił się między grupami otrzymującymi ziarno żyta hybrydowego lub populacyjnego. Obserwacje te stanowią kolejny dowód na brak istotnego wpływu różnych genotypów ziarna żyta na badane wskaźniki fermentacji w żwaczu. Należy jednak wspomnieć, że w niniejszej pracy pobranie paszy przez zwierzęta było ograniczone ilością zadawanej dawki pokarmowej, stąd prawdopodobnie pH płynu żwacza u zwierząt z grup otrzymujących ziarno żyta nie różniło się istotnie. Zatem można

stwierdzić obiektywnie, że zastosowany model badawczy pozwalał na wykrycie wyłącznie znaczących, ale nie niewielkich różnic pomiędzy ziarnem żyta hybrydowego i populacyjnego, które z kolei mogłyby być obserwowane gdyby dawki pokarmowe były podawane do woli.

Opisane powyżej różnice między ziarnem kukurydzy a ziarnem żyta w zakresie przebiegu ich fermentacji w żwaczu są dość dobrze znane i opisane (Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017; Rajtar i in., 2020). Warto jednak wspomnieć, że w obrębie tego samego gatunku zboża mogą wystąpić znaczne różnice w wartości pokarmowej ziarna, np. pomiędzy jego różnymi partiami (Silveira i in., 2007; Zhao i in., 2016; Krieg i in., 2017). Podobnie, ziarno uzyskane z różnych odmian tego samego gatunku zboża może różnić się znacznie pod względem wartości pokarmowej a w efekcie wywoływać różne efekty produkcyjne u zwierząt. U świń strawność większości AA egzogennych w starszych odmianach żyta była większa niż w nowszych odmianach żyta hybrydowego (Strang i in., 2016). Krieg i in. (2017) w badaniach *in vitro* i *in situ* wykazali różnice w strawności i stopniu rozkładu w żwaczu ziarna różnych genotypów żyta, pszenżyta i jęczmienia. W przeciwieństwie do wyników ww. doniesień, w niniejszej pracy nie wykazano różnic pomiędzy ziarnem żyta populacyjnego i hybrydowego w zakresie badanych wskaźników fermentacji w żwaczu oraz strawności w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że w ramach niniejszej pracy badano tylko wybrane parametry fermentacji w żwaczu oraz strawność w odcinku przewodu pokarmowego do dwunastnicy a nie wyłącznie w żwaczu. Przyjęta metodyka badawcza uwzględniała zatem potencjalny wpływ ksiąg na strawność składników pokarmowych, co często jest pomijane w przypadku badań prowadzonych wyłącznie w żwaczu (Ahvenjärvi i in., 2000).

Ziarno żyta charakteryzuje się wyjątkowo dużą zawartością polisacharydów nieskrobiowych, w szczególności arabinoksylianów i β -glukanów (Bach Knudsen, 1997). Zawartość arabinoksylianów w ziarnie tego gatunku zboża może wahać się w dużym zakresie, tj. od 6 do 12% (Hansen i in., 2003; Jürgens i in., 2012; Strang i in., 2016; Rodehutschord i in., 2016). Arabinoksyliany żyta są lepiej rozpuszczalne w wodzie i ulegają szybszej fermentacji mikrobiologicznej niż te, pochodzące z innych gatunków zbóż (Le Gall i in., 2009; Jürgens i in., 2012). Ponadto, koncentracja ligniny w życie może wahać się od 1 do 2%, a ADL od 0,7 do 0,9% (Strang i in., 2016; Rodehutschord i in., 2016). Duża zawartość ligniny w ziarnie zbóż zmniejsza strawność składników pokarmowych w całym przewodzie pokarmowym (Wenk, 2001). Wyniki badań Glitsø

i in. (2000) przeprowadzone na świniach wskazują również, że spożywanie węglowodanów obecnych w ziarnie żyta powoduje zmiany przebiegu fermentacji mikrobiologicznej mającej miejsce w przewodzie pokarmowym zwierząt monogastrycznych (Glitsø i in., 2000).

Biorąc pod uwagę możliwe różnice w zawartości składników pokarmowych oraz substancji antyodżywczych pomiędzy ziarnem żyta odmian hybrydowych i populacyjnych (Strang i in., 2016; Makarska i in., 2007; Miedaner i Geiger, 2015), oczekiwano różnic w przebiegu fermentacji i w strawności składników pokarmowych oznaczonej w różnych odcinkach przewodu pokarmowego owiec. Brak takich różnic stwierdzony w niniejszej pracy (poza niewielkimi różnicami w pH płynu żwacza) wynikał najprawdopodobniej ze zbliżonej zawartości najważniejszych węglowodanów w ziarnie obydwu odmian żyta. Obserwowano jedynie nieznacznie większą zawartość skrobi w ziarnie żyta populacyjnego, co może tłumaczyć nieco niższe pH żwacza, gdy ziarno tej odmiany było skarmiane w dawce pokarmowej zwierząt doświadczalnych.

W badaniach Andersson i in., (1993) oraz Coles i in. (1997) wykazano, że na skład chemiczny ziarna żyta w większym stopniu mogą wpływać czynniki środowiskowe lub agrotechniczne (np. czas wysiewu, czas zbioru, nawożenie itp.) niż genotyp. Boros i in. (niepublikowane) nieoczekiwanie wykazali, że ziarno żyta odmiany hybrydowej zawierało więcej arabinoksylianów i włókna niż ziarno żyta odmiany populacyjnej. W konsekwencji w niniejszej pracy uwzględniono, że na przebieg fermentacji w żwaczu ziarna żyta w równym stopniu mogą wpływać czynniki środowiskowe w okresie wegetacji roślin jak i odmiana. Założenia te są zbieżne z wynikami innych autorów (Krieg i in., 2017). Uznano zatem, że skład chemiczny ziarna żyta odmiany hybrydowej i populacyjnej, użytych w niniejszej pracy, był zbliżony, co wskazuje, że ewentualne różnice w ich uprawie nie miały większego wpływu na zawartość składników pokarmowych w ziarnie lub też, że warunki ich uprawy doprowadziły do znaczącego ujednoczenia ich składu chemicznego.

Podsumowując, skarmianie ziarna żyta w dawkach pokarmowych dla owiec, zarówno odmiany hybrydowej, jak i populacyjnej, nie miało wpływu na stężenie lotnych kwasów tłuszczowych i amoniaku w płynie żwacza, na jego pH, a także strawność składników pokarmowych w żołądku i jelitach. Skrobia ziarna żyta była szybciej fermentowana w żwaczu niż skrobia kukurydziana, co najprawdopodobniej przyczyniło się do uzyskania nieco niższego odczynu płynu żwacza u zwierząt żywionych z udziałem żyta, niezależnie od zastosowanej odmiany.

5.3. Efekty produkcyjne i przydatność technologiczna mleka krów żywionych z udziałem ziarna żyta odmiany hybrydowej

Ziarno żyta jest niechętnie stosowane w żywieniu krów mlecznych ze względu na ryzyko pojawienia się szkodliwych alkaloidów sporyszu (Denek i Deniz, 2004), niską wartość biologiczną białka i wysoką podatność jego skrobi na rozkład w żwaczu (Micek, 2008; Rodehutschord i in., 2016). Mając na uwadze powyższe niedogodności od wielu lat prowadzono intensywne prace hodowlane nad nowymi odmianami żyta, które doprowadziły do opracowania odmian hybrydowych, charakteryzujących się obniżoną koncentracją substancji antyodżywczych, podwyższoną zimotrwałością i odpornością na sporysz oraz wyższą wartością odżywczą (Jürgens i in., 2012). Ziarno uzyskane z takich odmian posiada potencjalnie wyższą przydatnością paszową i może być znacznie częściej niż dotychczas stosowane w żywieniu zwierząt. W dostępnej literaturze niewiele jest jednak prac, w których badano możliwości zastosowania ziarna żyta odmian hybrydowych w żywieniu przeżuwaczy.

W badaniach własnych zastąpiono ziarno kukurydzy ziarnem żyta odmiany hybrydowej w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych w pełnej laktacji. Zamiana ziarna tych gatunków roślin spowodowała wystąpienie nieznaczących różnic w składzie chemicznym dawek pokarmowych. Istotnie mniejszemu pobraniu EE i skrobi przez zwierzęta żywione z udziałem ziarna żyta towarzyszyła tendencja do większego pobrania aNDF. Izoenergetyczne i izobiałkowe dawki pokarmowe uzyskano poprzez wyższy o 0,6 punktu procentowego udział żyta i tyle samo mniejszy udział makuchów rzepakowych w dawce pokarmowej przeznaczonej dla grupy doświadczalnej. W efekcie krowy otrzymujące ziarno żyta miały mniejsze pobranie EE i skrobi, co było skutkiem niższego pobrania SM dawki pokarmowej oraz wyższej zawartości EE i skrobi w ziarnie kukurydzy, w odniesieniu do zawartości tych składników w ziarnie żyta.

W porównaniu ze skrobią kukurydzianą, skrobia żytnia jest dużo szybciej fermentowana w żwaczu (Micek, 2008; Benninghoff i in., 2015; Krieg i in., 2017; Rajtar i in., 2020), a przez to może zwiększać ryzyko wystąpienia kwasica żwacza (Plaizier i in., 2009). Z drugiej strony, gdy krowy mleczne w okresie laktacji są żywione ziarnem zawierającym skrobię wolno rozkładającą się w żwaczu, taką jak kukurydziana, znaczne ilości skrobi nie podlegają fermentacji, co może mieć ograniczający wpływ na syntezę białek mikroorganizmów i ilość białka dostępnego dla zwierząt (Mills i in., 1999). Zatem, podatność skrobi pochodzącej z różnych gatunków zbóż na fermentację w żwaczu (np. skrobi żytniej w porównaniu z kukurydzianą) może

prowadzić do ujawniania się zróżnicowanych efektów, w tym różnic w pobraniu SM i w wydajności mleka (Micek, 2008; Kargar i Ghorbani, 2014). Casper i Schingoethe (1990) odnotowali wyższą produkcję mleka u krów żywionych z udziałem ziarna kukurydzy w porównaniu z krowami żywionymi z udziałem ziarna jęczmienia. Z kolei Kargar i Ghorbani (2014) wykazali, że zmiana tempa rozkładu w żwaczu SM dawki pokarmowej poprzez zastąpienie ziarna jęczmienia ziarnem kukurydzy nie wpłynęła na pobranie paszy ani na wydajność mleka. W tym ostatnim badaniu wydajność tłuszczu mleka wykazywała jednak tendencję do liniowego zwiększania się wraz ze zwiększającym się udziałem ziarna kukurydzy w dawce pokarmowej. W innych badaniach (Oliveira i in., 1993; Slots i in., 2009) wykazano, że na wydajność mleka u krów nie wpływa ani gatunek ziarna ani ilość skrobi ulegającej rozkładowi w żwaczu. W tym kontekście na uwagę zasługuje fakt, że wpływ zastąpienia ziarna kukurydzy ziarnem innych gatunków zbóż, takich jak pszenicy czy jęczmienia, w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych był szeroko badany i dyskutowany. W dostępnej literaturze naukowej nie wiele jest jednak prac dotyczących wykorzystania w tym celu ziarna żyta, zwłaszcza pochodzącego z odmian hybrydowych (Sharma i in., 1981, 1983; Südekum i Brandt, 1994; Pieszka i in., 2015).

W badaniach własnych, prowadzonych z udziałem ziarna żyta odmiany hybrydowej i ziarna kukurydzy, nie stwierdzono istotnej różnicy w pobraniu SM pomiędzy grupami doświadczalnymi, co potwierdza tezę, że smakowitość ziarna żyta dla krów mlecznych jest zbliżona do smakowitości ziarna innych gatunków zbóż (Sharma i in., 1983; Pieszka i in., 2015). Z kolei Sharma i in. (1981) wykazali negatywny wpływ stosowania ziarna żyta w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych, sporządzonych na bazie kisonki z traw, na pobranie paszy. Zastąpienie ziarna jęczmienia ziarnem żyta zmniejszyło pobranie SM, natomiast w niewielkim stopniu wpłynęło na obniżenie średniej dziennej wydajności mleka. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w badaniach tych stosowano wyższy niż w doświadczeniu własnym udział ziarna żyta w dawce pokarmowej oraz że badane ziarno nie pochodziło z odmian hybrydowych. Podobnie Kraszewski i Kozłowski (2000) w doświadczeniu przeprowadzonym na krowach mlecznych żywionych z udziałem mieszanek treściwych zawierających 50% ziarna żyta wykazali istotny spadek wydajności mleka i obniżenie jakości tłuszczu mlekowego ze względu na wyższy udział nasyconych kwasów tłuszczowych w sumie KT, w porównaniu z grupą kontrolną żywioną z udziałem ziarna jęczmienia.

W znacznej części badań przeprowadzonych przez innych autorów nie wykazano negatywnego wpływu zastąpienia ziarna jęczmienia, pszenicy lub kukurydzy ziarnem żyta na pobranie paszy przez krowy mleczne oraz na ich wydajność i skład mleka (Sharma i in., 1983; Pieszka i in., 2015). Kirilov i in. (1994) nie stwierdzili zmniejszenia wydajności mleka w grupach krów żywionych z udziałem mieszanki treściwej zawierającej 20, 40 lub 50% ziarna żyta w porównaniu z grupą kontrolną żywioną wyłącznie z udziałem ziarna jęczmienia. W badaniach własnych uzyskano statystycznie nieistotne, ale liczbowo niższe wartości średniej produkcji mleka (o 1,35 kg/dobę), liczbowo wyższe wartości średniej zawartości tłuszczu w mleku (o 0,18 punktów procentowych) i tendencję do wyższej średniej zawartości białka w mleku (o 0,13 punktów procentowych) w grupie krów otrzymujących ziarno żyta w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą ziarno kukurydzy. Przyczyną tego stanu może być fakt, że krowy żywione z udziałem ziarna kukurydzy miały liczbowo wyższe pobranie SM oraz istotnie wyższe pobranie skrobi i EE. Na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań (Micek, 2008), można spekulować, że wykorzystanie skrobi kukurydzianej przez zwierzęta mogło być bardziej efektywne niż wykorzystanie skrobi żytniej w dostarczaniu energii do produkcji mleka ze względu na jej trawienie w jelicie cienkim. Wolniejszy rozkład skrobi kukurydzianej w żwaczu powodował zwiększony jej przepływ do jelit (skrobia *by-pass*), gdzie ulegała rozkładowi do glukozy, stanowiącej bardziej efektywne źródło energii niż LKT powstające w żwaczu. Z drugiej strony skrobia żytnia, mająca wyższą zdolność do rozkładu w żwaczu, mogła dostarczać więcej energii dla drobnoustrojów żwacza, przyczyniać się do wyższej syntezy białka mikrobiologicznego i w konsekwencji do wyższej koncentracji białka w mleku. Ten ostatni wpływ mógł być spowodowany także tzw. efektem „zagęszczenia mleka” powodującym zwiększenie zawartości składników mleka w sytuacji ogólnie niższej jego wydajności w grupie zwierząt żywionych z udziałem ziarna żyta.

W badaniach własnych nie stwierdzono wpływu udziału ziarna żyta w dawkach pokarmowych krów na pogorszenie jakości tłuszczu mlekowego. Przeciwnie, obserwowano tendencję do niższego udziału kwasu mirystynowego (C14:0) i palmitynowego (C16:0) w sumie kwasów tłuszczowych oraz tendencję do zwiększenia udziału sumy nienasyconych kwasów tłuszczowych. Powyższe zmiany w składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka należy uznać za korzystne dla konsumentów. Na podkreślenie zasługuje również prawie identyczny w obu grupach doświadczalnych udział kwasu linolowego (C18:2) i linolenowego (C18:3), uznawanych

za substancje o charakterze prozdrowotnym. Zbliżone wyniki uzyskali Pieszka i in. (2015), którzy stwierdzili wyższy poziom MUFA i PUFA w tłuszczu mlekowym krów żywionych z udziałem ziarna żyta odmiany hybrydowej. Ewentualne różnice pomiędzy tymi badaniami a badaniami własnymi mogą wynikać z rodzaju ziarna zbóż zastosowanego w żywieniu zwierząt z grupy kontrolnej. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Pieszkę i in. (2015) w miejsce ziarna pszenicy w mieszance treściwej produkcyjnej (89,5%; grupa kontrolna) zastosowano ziarno żyta odmiany hybrydowej (79,0%) oraz poekstrakcyjną śrutę rzepakową (10,5%). Dane uzyskane w doświadczeniu własnym, w którym ziarno kukurydzy zastąpiono ziarnem żyta hybrydowego sugerują tendencję do poprawy jakości tłuszczu mlekowego w kierunku prozdrowotnym ze względu na mniejszy udział kwasów nasyconych, natomiast większy udział nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka.

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Autorkę niniejszego opracowania nie stwierdzono istotnego wpływu pochodzenia ziarna zbóż stosowanego w dawce pokarmowej dla krów mlecznych na zawartość AA w mleku. Natomiast, obserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy grupami doświadczalnymi składu frakcji białek. W celu wytłumaczenia tego zjawiska przyjęto hipotezę, że całkowita zawartość AA w mleku, wyrażona w g/kg, pochodzi z różnych frakcji białka, które w przeprowadzonym doświadczeniu raportowano jako procentowy udział w białku ogółem. Z tego powodu zawartość poszczególnych AA w mleku może nie różnić się, pomimo różnic wykazanych w składzie poszczególnych frakcji białek. Zakłada się, że efekt ten mógł być powiązany ze zmodyfikowaną syntezą białek mikroorganizmów w zważy w wyniku procesów fermentacyjnych modulowanych różnymi właściwościami skrobi (Micek, 2008). W konsekwencji białko mleka pochodzące od krów żywionych z udziałem ziarna żyta charakteryzowało się wyższym udziałem frakcji α - i κ -kazeiny oraz mniejszym udziałem β -kazeiny, immunoglobulin i wolnych peptydów. Kazeina, jako główny składnik twarogu, ma decydujący wpływ na wydajność produkcji sera. Dlatego warto wspomnieć o wyższym o 2,5 punktu procentowego ($P < 0,05$) udziale sumy wszystkich kazein w białku mleka pochodzącym od zwierząt z grupy otrzymującej ziarno żyta. Według Cipolat-Gotet i Cecchinato (2018) wydajność SM sera jest dodatnio skorelowana z ilością α s1- i κ -kazeiny, ze względu na silny wpływ obu tych frakcji na tempo odzysku białka i tłuszczu z twarogu. W konsekwencji można przypuszczać, że skład frakcji białkowych mleka uzyskanego od krów żywionych z udziałem ziarna żyta

będzie miał bardziej korzystny wpływ na produkcję sera niż mleko pochodzące od krów żywionych z udziałem ziarna kukurydzy.

W przeprowadzonym doświadczeniu własnym rodzaj ziarna stosowanego w żywieniu krów nie wpłynął na przydatność technologiczną mleka do przerobu tłuszczu. Brak różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi w liczbie kwasowej i nadtlenkowej wskazuje na zbliżone zmiany zachodzące we właściwościach lipolitycznych i oksydacyjnych tłuszczu oraz na zbliżoną potencjalną stabilność tłuszczu podczas przechowywania. Podobnie, jeśli chodzi o temperaturę krzepnięcia i topnienia mleka. Nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami w zakresie zmian tych wskaźników, co wskazuje na zbliżone właściwości przetwórcze mleka. Na temperaturę krzepnięcia i topnienia tłuszczu mlekowego wpływa głównie skład kwasów tłuszczowych triacylogliceroli. Ponieważ tłuszcz mlekowy zawiera dużą liczbę różnych typów tych związków, które różnią się znacznie pod względem masy cząsteczkowej i stopnia nasycenia, jego temperatura topnienia wykazuje szeroki zakres wartości od -35 do +38°C (Taylor i MacGibbon, 2011). Zakresy wartości obu tych wskaźników dla tłuszczu mlekowego wahają się odpowiednio pomiędzy 19-24°C a 31-40 °C (Ziajka, 2008), dlatego uzyskane wyniki należy uznać za zgodne z tymi normami. Pomimo występowania tendencji do wyższego udziału nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka pochodzącego od krów żywionych z udziałem ziarna żyta, nie stwierdzono wpływu żywienia na temperaturę krzepnięcia i topnienia tłuszczu mlekowego a w konsekwencji na zmiany przydatności tłuszczu dla przetwórstwa.

Skład dawki pokarmowej podawanej krowom jest jednym z głównych czynników, które wpływają znacząco na właściwości sensoryczne mleka. Wynika to głównie z faktu, że niektóre związki chemiczne, zwłaszcza lotne, zawarte w paszach mogą przedostawać się do mleka a w konsekwencji wpływać na jego zapach i smak (Schiano i in., 2017). Żywienie krów z udziałem ziarna żyta pozytywnie wpłynęło na cechy sensoryczne mleka. Istotne różnice w stosunku do grupy kontrolnej stwierdzono zarówno w zakresie poszczególnych parametrów, jak i w ocenie ogólnej mleka. Efekt ten jest trudny do wyjaśnienia, jednak przyjęto założenie, że może być on skutkiem zmian w zawartości substancji wywierających wpływ na cechy sensoryczne mleka, takich jak kwasy tłuszczowe czy frakcje białka, ale również obecności w mleku innych związków występujących w ziarnie żyta. Warto zwrócić jednak uwagę, że w dostępnej literaturze zagadnienie to nie było dotychczas szeroko badane i dyskutowane.

Do najczęściej analizowanych wskaźników przydatności przetwórczej mleka do produkcji serów i wysokotemperaturowych produktów mlecznych (np. mleka UHT) należą czas koagulacji mleka pod wpływem podpuszczki oraz stabilność termiczna mleka. Główny wpływ na te cechy mają zawartość i skład białka, zawartość składników mineralnych oraz kwasowość mleka. Pomimo różnic stwierdzonych pomiędzy grupami doświadczalnymi w składzie frakcji białek, nie obserwowano wpływu dawki pokarmowej na czas krzepnięcia mleka pod wpływem podpuszczki, stabilność termiczną, czy kwasowość miareczkową. Można przypuszczać, że numerycznie wyższe wartości czasu termostabilności i numerycznie niższe wartości czasu krzepnięcia mleka pod wpływem podpuszczki w grupie krów żywionych z udziałem ziarna żyta hybrydowego były związane z większym udziałem kazeiny, w tym jej frakcji κ . Ze względu na silne właściwości hydrofilowe frakcja κ -kazeiny ma decydujący wpływ na stabilność układu koloidalnego białek mleka (Horne i Banks, 2004).

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że ziarno żyta hybrydowego charakteryzuje się niższą przydatnością w żywieniu wysoko wydajnych krów mlecznych niż ziarno kukurydzy. Na pod kreślenie zasługuje jednak fakt, że w przypadku żywienia zwierząt o niższych wydajnościach, tzn. nieprzekraczających 27 kg/dz./szt. ziarno żyta może być interesującą alternatywą pozwalającą zaoszczędzić ziarno kukurydzy dla krów o najwyższej produktywności w gospodarstwie (zwierząt w szczycie laktacji). W tym przypadku zastosowanie ziarna żyta hybrydowego nie tylko nie zmniejsza znacząco wydajności mleka i wydajności składników mleka, ale może powodować zwiększenie jego właściwości prozdrowotnych i przydatności dla przetwórstwa. Dalsze badania z tego zakresu będą musiały jednak uwzględnić wpływ na badane wskaźniki zwiększającej się ilości ziarna żyta w dawce pokarmowej, zwłaszcza pochodzącego z odmian hybrydowych oraz stopnia jego rozdrobnienia.

Podsumowując, zastosowanie ziarna żyta hybrydowego jako substytutu kukurydzy w dawkach pokarmowej dla krów mlecznych w pełnej laktacji nie spowodowało drastycznego zmniejszenia pobrania suchej masy ani istotnego obniżenia ilości i jakości pozyskiwanego mleka. Przeciwnie, mleko od krów żywionych z udziałem ziarna żyta miało tendencję do wyższej zawartości białka w mleku oraz wyższego udziału nienasyconych kwasów tłuszczowych w sumie kwasów tłuszczowych. Ponadto, mleko pochodzące od zwierząt z grupy otrzymującej ziarno żyto charakteryzowało się wyższym udziałem kazeiny ogółem w białku mleka oraz wyższą oceną wskaźników sensorycznych mleka, bez negatywnego wpływu na jakość i przydatność technologiczną mleka. Na

podkreślenie zasługuje jednak fakt, że w porównaniu z ziarnem kukurydzy, dawki pokarmowe z udziałem ziarna żyta mają niższy potencjał do stymulowania produkcji mleka, co może znacząco ograniczyć wydajność zwierząt w szczycie laktacji.

6. Wnioski

- Sposób przetwarzania ziarna żyta i kukurydzy przed skarmianiem wpływa istotnie na stopień i tempo rozkładu w żwaczu oraz strawność jelitową białka i skrobi, a przez to na miejsce trawienia tych składników w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy.
- Zastosowanie ziarna żyta odmiany hybrydowej lub populacyjnej w dawkach pokarmowych dla owiec nie wpływa na pH, proporcje LKT i stężenie amoniaku w płynie żwacza oraz na strawność składników pokarmowych.
- Zamiana ziarna kukurydzy na ziarno żyta, niezależnie od jego odmiany, nie wpływa na stężenie amoniaku w płynie żwacza oraz na proporcje LKT w sumie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, za wyjątkiem obniżenia udziału kwasu walerianowego. Prowadzi jednakże do obniżenia pH płynu żwacza na skutek wyższego rozkładu skrobi w tym odcinku przewodu pokarmowego.
- Zastosowanie w żywieniu krów mlecznych w pełnej laktacji ziarna żyta odmiany hybrydowej, jako substytutu ziarna kukurydzy, nie ma istotnego wpływu na pobranie suchej masy, a także na dzienną wydajność mleka.
- Mleko uzyskane od krów żywionych z udziałem ziarna żyta hybrydowego charakteryzuje się wysokim udziałem kazeiny ogółem w białku mleka oraz wysoką oceną wskaźników sensorycznych. Nie stwierdza się negatywnego wpływu skarmiania ziarna żyta na jakość i przydatność technologiczną mleka.
- Ziarno żyta odmiany hybrydowej może być stosowane jako alternatywa dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych w okresie pełnej laktacji. Dawki pokarmowe z udziałem ziarna żyta mają jednak niższy potencjał do stymulowania produkcji mleka, zwłaszcza u zwierząt o wydajnościach powyżej 27 kg/dz./szt.

7. Literatura

- Agriopoulou, S. 2021. Ergot Alkaloids Mycotoxins in Cereals and Cereal-Derived Food Products: Characteristics, Toxicity, Prevalence, and Control Strategies. 2021. *Agronomy*. 11, 931.
- Ahvenjärvi S., Vanhatalo A., Huhtanen P., Varvikko T. 2000. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *Brit. J. Nutr.*, 83: 67–77.
- Allen M. S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.*, 80: 1447–1462.
- Andersson R., Westerlind E., Tilly A. C., Åman P. 1993. Natural variations in the chemical composition of white flour. *J. Cereal Sci.*, 17: 183–189.
- Andersson A. A. M., Dimberg L., Åman P., Landberg R. 2014. Recent findings on certain bioactive components in whole grain wheat and rye. *J. Cereal Sci.*, 59: 294–311.
- Antoniou T. A., Marquardt R. R., Cansfield P. E. 1981. Isolation, partial characterization, and antinutritional activity of a factor (pentosans) in rye grain. *J. Agric. Food Chem.* 29:1240-1247.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18th ed. AOAC International, Washington, DC.
- Araujo R. C., Piresa A. V., Mourão G. B., Abdallah A. L., Sallam S. M. A. 2011. Use of blanks to determine in vitro net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 166–167: 155–162.
- Bach Knudsen K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67:319-338.
- Bach Knudsen K. E., Serena A., Kjaer A. K. B., Jørgensen H., Engberg R. 2005. Rye bread enhances the production and plasma concentration of butyrate but not the plasma concentrations of glucose and insulin in pigs. *J. Nutr.* 135:1696-1704.
- Balcerek M., Pielech-Przybylska K., Strąk E., Patelski P., Dziekońska U. 2016. Comparison of fermentation results and quality of the agricultural distillates obtained

- by application of commercial amyolytic preparations and cereal malts. *Eur. Food Res. Tech.* 242:321-335.
- Bederska-Łojewska D., Świątkiewicz S., Arczewska-Włosek A., Schwarz T. 2017. Rye non-starch polysaccharides: Their impact on poultry intestinal physiology, nutrients digestibility and performance indices – a review. *Ann. Anim. Sci.* 17:351-369.
- Bengtsson S., Andersson R., Westerlund E., Åman P. 1992. Content, structure and viscosity of soluble arabinoxylans in rye grain from several countries. *J. Sci. Food Agric.* 58:331-337.
- Benninghoff J., Paschke-Beese M., Südekum K. H. 2015. In situ and in vitro ruminal degradation of maize grain and untreated or xylose-treated wheat, barley and rye grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 210: 86–93.
- Bertipaglia L. M. A., Fondevila M., van Laar H., Castrillo C. 2010. Effect of pelleting and pellet size of a concentrate for intensively reared beef cattle on in vitro fermentation by two different approaches. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 159: 88–95.
- Boros, D., Marquardt R. R., Słomiński B. A., Guenter W. 1993. Extract viscosity as an indirect assay for water-soluble pentosan content in rye. *Cereal Chem.* 70:575-580.
- Boros D., Fraś A., Gołębiwska K., Gołębiwski D., Paczkowska O., Wiśniewska M. 2015. Wartość odżywcza i właściwości prozdrowotne ziarna odmian zbóż i nasion rzepaku zalecanych do uprawy w Polsce. Monografia pod. red. Boros i Fraś. Monografie i Rozprawy Naukowe IHAR-PIB 49: 1-120.
- Brestenský M., Nitrayová S., Patráš P., Heger J. 2013. Standardized ileal digestibilities of amino acids and nitrogen in rye, barley, soybean meal, malt sprouts, sorghum, wheat germ and broken rice fed to growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186:120-124.
- Brzóska F. 2007. Wykorzystanie ziarna zbóż w żywieniu różnych gatunków zwierząt. Wybrane elementy technologii produkcji roślinnej, Wydawnictwo IUNG-PIB, T. 9: 99-109.
- Buksa, K. 2018. Extraction and characterization of rye grain starch and its susceptibility to resistant starch formation. *Carbohydr. Polym.* 194:184-192.
- Casper P., Schingoethe D. J. 1990. Response of early lactation dairy cows fed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein. *J. Dairy Sci.*, 73: 1039–1050.

- Cervantes-Pahm S. K., Liu Y., Stein H. H. 2013. Comparative digestibility of energy and nutrients and fermentability of dietary fiber in eight cereal grains fed to pigs. *J. Sci. Food Agric.* 94:841-849.
- Cervantes-Pahm S. K., Liu Y., Stein H. H. 2014. Digestible indispensable amino acid score and digestible amino acids in eight cereal grains. *Br. J. Nutr.* 111:1663-1672.
- Chibisa G. E., Christensen D. A., Mutsvangwa T. 2012. Effects of replacing canola meal as the major protein source with wheat dried distillers grains with solubles on ruminal function, microbial protein synthesis, omasal flow, and milk production in cows. *J. Dairy Sci.* 95(2), 824–841.
- Choszcz D. J., Peszczyński P. S., Kolanowska E., Konopka S., Lipiński A. 2020. The effect of selected factors on separation efficiency in a pneumatic conical separator. *Sustainability.* 12, 3051.
- Cipolat-Gotet C., Cecchinato A. 2018. Variations in milk protein fractions affect the efficiency of the cheese-making process. *J. Dairy Sci.*, 101: 8788–8804.
- Coles G. D., Hartunian - Sowa S. M., Jamieson P. D., Hay A. J., Atwell W. A., Fulcher R. G. 1997. Environmentally-induced variation in starch and non-starch polysaccharide content in wheat. *J. Cereal Sci.*, 26: 47–54.
- Conway E. J. 1962. Ammonia. General method. In: *Microdiffusion analysis and volumetric error.* Crosby Lockwood and Son Ltd., London, UK, pp. 98–100.
- Coufal-Majewski S., Stanford K., McAllister T., Blakley B., McKinnon J., Chaves A. V., Wang Y. 2016. Impacts of cereal ergot in food animal production. *Front. Vet. Sci.* 3:1-13.
- Crowe T. C., Seligman S. A., Copeland L. 2000. Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *J. Nutr.*, 130: 2006–2008.
- Crowley S.V., Dowling A.P. 2016. Impact of α -lactalbumin: β -lactoglobulin ratio on the heat stability of model infant milk formula protein systems. *Food Chem.*, 194: 184–190.
- Denek N., Deniz S. 2004. The determination of energy levels in some cereal grains used in ruminant diets by in vivo and in vitro methods. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28: 185–193.
- Drews E., Seibel W. 1976. Bread-baking and other uses around the world. In: W. Bushuk, editor, *Rye: Production, Chemistry and Technology.* Amer. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN. p. 127-178.

- Englyst H. N., Cummings J. H. 1984. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109: 937–942.
- Englyst H. N., Kingman S. M., Cummings J. H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46(Suppl. 2):S33-S50.
- Erwin E. S., Marco G. J., Emery E. M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, 44: 1768–1771.
- Evans L. E., Scoles G. J. 1976. Cytogenetics, plant breeding and agronomy. In: W. Bushuk, editor, *Rye: Production, Chemistry and Technology*. Amer. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN. p. 13-26.
- Faisant N., Planchot V., Kozłowski F., Pacourent M.P., Colonna P., Champ M. 1995. Resistant starch of determination adapted to products containing high level of resistant starch. *Sci. Alim.*, 15: 83–89.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. FAOSTAT: Production: Crops. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Dostęp 27.12. 2020.
- FDA (Food and Drug Administration). 2018. Guidance for industry: The declaration of certain isolated or synthetic non-digestible carbohydrates as dietary fiber on nutrition and supplement facts labels. <https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/UCM610144.pdf>. Dostęp 27.12. 2020.
- Fengler A. I., Marquardt R. R. 1988. Water-soluble pentosans from rye: II. Effects on rate of dialysis and on the retention of nutrients by the chick. *Cereal Chem.* 65:298-302.
- Folch J., Lees M. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226 (1): 497–509.
- Fowler D. B., Brydon J., Darroch B. A., Entz M. H, Johnston A. M. 1990. Environment and genotype influence on grain protein concentration of wheat and rye. *Agron. J.* 82:655-664.
- Friend D. W., MacIntyre T. M. 1969. Digestibility of rye and its value in pelleted rations for pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 49:375-381.
- Geiger H. H., Miedaner T. 2009. Rye Breeding. In: M. J. Carena, editor, *Cereals. Handbook of Plant Breeding No. 3*. Springer US, New York, NY. p. 157-181.
- Glitsø L. V., Jensen B. B., Bach Knudsen K. E. 2000. In vitro fermentation of rye carbohydrates including arabinoxylans of different structure. *J. Sci. Food Agr.*, 80: 1211–1218.

- Górka P., Śliwiński B., Flaga J., Wieczorek J., Godlewski M. M., Wierzchoś E., Zabielski R., Kowalski Z. M. 2017. Effect of butyrate infusion into the rumen on butyrate flow to the duodenum, selected gene expression in the duodenum epithelium, and nutrient digestion in sheep. *J. Dairy Sci.* 95:2144–2155.
- Grajewski J., Błajet-Kosicka A., Twarużek M, Kosicki R. 2012. Occurrence of mycotoxins in Polish animal feed in years 2006-2009. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96:870-877.
- Główny Urząd Statystyczny. 2021. Wynikowy szacunek głównych ziemiopłodów rolnych i ogrodniczych w 2021 r. GUS, Warszawa.
- Hansen H. B., Rasmussen C. V., Bach Knudsen K. E., Hansen Å. 2003. Effects of genotype and harvest year on content and composition of dietary fibre in rye (*Secale cereale* L.) grain. *J. Sci. Food Agric.* 83:76-85.
- Herkelman K. L., Cromwell G. L., Stahly T. S., Pfeiffer T. W., Knabe D. A. 1992. Apparent digestibility of amino acids in raw and heated conventional and low-trypsin-inhibitor soybeans for pigs. *J. Anim. Sci.* 70:818-826.
- Horne D. S., Banks J. M. 2004. Rennet-induced coagulation of milk. In: *Cheese chemistry, physics and microbiology*. Fox PF, McSweeney PLH, Cogan TMC, Guinee TP (Eds.), Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 47–70.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins : Besoins des animaux - Valeurs des aliments. Editions Quae, Versailles, France, 2007.
- ISO 4121:2003. 2003. Sensory analysis — Guidelines for the use of quantitative response scales.
- Jondreville C., Van Den Broecke J., Gâtel F., Grosjean F., Van Cauwenberghe S., Sève B. 2001. Ileal digestibility of amino acids and estimates of endogenous amino acid losses in pigs fed wheat, triticale, rye, barley, maize and sorghum. *Anim. Res.* 50:119-134.
- Jürgens H.U., Jansen G., Wegener C.B. 2012. Characterisation of several rye cultivars with respect to arabinoxylans and extract viscosity. *J. Agric. Sci.* 4:1-12.
- Kamyczek M., Pieszka M., Łopuszańska-Rusek M. 2012. Ocena przydatności żyta hybrydowego w żywieniu bydła mlecznego. Evaluation of hybrid rye in feeding dairy cows. Pierwszy Międzynarodowy Kongres Żyta „Żyto z perspektywy 2012” Poznań 23-24.05.2012., s. 27.

- Kargar S., Ghorbani G. R. 2014. Reciprocal combinations of barley and corn grains in oil-supplemented diets: Feeding behavior and milk yield of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 97: 7001–7011.
- Karppinen S., Myllymäki O., Forssell P., Poutanen K. 2003. Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chem.* 80.
- Kasprzak M. M., Lærke H. N., and Bach Knudsen K. E. 2012. Changes in molecular characteristics of cereal carbohydrates after processing and digestion. *Int. J. Mol. Sci.* 13:16833-16852.
- Kirilov M. P., Kumarin S. V., Ilyukhina L. A., Golovin A. V., Udalova E. V. 1994. Rye in feed mixtures. *Životnovodštvo*, 33: 16–18.
- Knowlton K. F., Glenn B. P., Erdman R. A. 1998. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. *J. Dairy Sci.*, 81: 1972–1984.
- Kowalski Z. M., Strzetelski J., Niwińska B., Nowak W., Pająk J., Szyszkowska A., 2008. Standardowe metody oznaczania rozkładu białka pasz w przewodzie pokarmowym zwierząt przeżuwających. *Wiadomości Zootechniczne*, R. 46, 4: 53- 58.
- Kraszewski J., Kozłowski J. 2000. Wpływ skarmiania śruty żytniej w dawkach pokarmowych krów na wartość odżywczą mleka i masła. *Rocz. Nauk. Zoot., Supl.*, 6: 68-72.
- Krieg J., Seifried N., Steingass H., Rodehutschord M. 2017. In situ and in vitro ruminal starch degradation of grains from different rye, triticale and barley genotypes. *Animal*, 11: 1745–1753.
- Kulawinek M., Kozubek A. 2008. Quantitative determination of alkylresorcinols in cereal grains: independence of the length of the aliphatic side chain. *J. Food Lipids.* 15: 251–262.
- Lærke H. N., Arent S., Dalsgaard S., Bach Knudsen K. E. 2015. Effect of xylanases on ileal viscosity, intestinal fiber modification, and apparent ileal fiber and nutrient digestibility of rye and wheat in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 93:4323-4335.
- Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680–685.
- Laidig F., Piepho H. P., Rentel D., Drobek T., Meyer U., Huesken A. 2017. Breeding progress, variation, and correlation of grain and quality traits in winter rye hybrid and population varieties and national on-farm progress in Germany over 26 years. *Theor. Appl. Genet.* 130:981-998.

- Le Gall M., Serena A., Jørgensen H., Theil P. K., Bach Knudsen K. E. 2009. The role of whole-wheat grain and wheat and rye ingredients on the digestion and fermentation processes in the gut – a model experiment with pigs. *Br. J. Nutr.* 102:1590-1600.
- Lott J. N. A., Ockenden I., Raboy V., Batten G. D. 2000. Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. *Seed Sci. Res.* 10:11-33.
- Lykos T., Varga G. A., 1995. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. *J. Dairy Sci.*, 78:1789-1801.
- Mabjeesh S. J., Cohen M., Arieli A. 2000. In vitro methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: Comparison of methods and inoculum source. *J. Dairy Sci.*, 83: 2289–2294.
- Makarska E., Gruszecka D., Gardzielewska A. 2007. The content of alkylresorcinols and trypsin inhibitors activity in translocational rye strains and parental components *Secale cereale L.* and *Dasypyrum villosum (L.) P. Candargy.* *Annales Universitatis Mariae Curie, Skłodowska Lublin, Polonia LXII(1)*, 117-121.
- McAllister T. A., Phillippe C., Rode L. M., Cheng K. J. 1993. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, 71: 205–212.
- McCleary B. V., Murphy A., Mugford D. C. 2000. Measurement of total fructan in foods by enzymatic/spectrophotometric method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 83:356-364.
- Menke K., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D., Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science.* 93: 217 - 222.
- Mertens D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative Study. *J. AOAC Int.*, 85: 1217–1240.
- Micek P. 2008. Przydatność żywieniowa ziarna krajowych gatunków i odmian zbóż dla przeżuwaczy. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Rozprawy, Nr 326.*
- Micek P., Strzałkowska N., Rajtar P., Gorka P., Schwarz T. 2019. Rye variety and grain processing affect feed intake, milk yield and composition. 23rd Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition. University of Torino - Italy; September 18th – 20th 2019.

- Miedaner T., Geiger H. H. 2015. Biology, genetics, and management of ergot (*Claviceps* spp.) in rye, sorghum, and pearl millet. *Toxins*. 7:659-678.
- Miedaner T., Herter C. P., Goßlau H., Wilde P., Hackauf, B. 2017. Correlated effects of exotic pollen-fertility restorer genes on agronomic and quality traits of hybrid rye. *Plant Breeding*, 126, 224-229.
- Miedaner T., Korzun V., Bauer E. 2019. Applications of Genetic and Genomic Research in Cereals. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 329-348.
- Mills J. A. N., France J., Dijkstra J. 1999. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model. 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. *J. Anim. Feed Sci.*, 8 (3): 291–340.
- Nicholson S. S. 2007. Ergot. In: R. C. Gupta, editor, *Veterinary Toxicology*. Elsevier Inc. p. 1015-1018.
- Nikokyris P. N., Kandyliis K. 1997. Feed protein fractions in various solvents of ruminant feedstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 75: 198–204.
- Nilsson M., Andersson R., Andersson R. E., Autio K., Åman P. 2000. Heterogeneity in a water-extractable rye arabinoxylan with a low degree of disubstitution. *Carbohydr. Polym.* 41:397-405.
- North Dakota State University. 2018. Winter Rye Variety Trial Results. <https://www.ag.ndsu.edu/varietytrials/winter-rye> Dostęp 15.12.2020.
- NRC. 2001. National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed., National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 2012. *Nutrient requirements of swine*. 11th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Offner A., Sauvant D. 2004. Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 111: 41–56.
- Oliveira J. S., Huber J. T., Ben-Ghedalia D., Swingle R. S., Theurer C. B., Pessaraki M. 1993. Influence of sorghum grain processing on performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76: 575–581.
- Ørskov E. R., McDonald P. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.*, 92: 499–503.

- Penner G. B., Aschenbach J. R., Gabel G., Oba M. 2009. Technical note: Evaluation of a continuous ruminal pH measurement system for use in noncannulated small ruminants. *J. Anim. Sci.* 87:2363–2366.
- Petr J. 2005. Yield potential of rye, hybrid and population varieties in ecological and intensive cultivation. *Sci. Agric. Bohem.*, 36: 41–48.
- Petri E. M., Zain M., Warly L., Hermon H. 2021. Effects of rumen-degradable-to-undegradable protein ratio on ruminant diet on in vitro digestibility, rumen fermentation, and microbial protein synthesis. *Vet World.* 14 (3); 640-648.
- Pettersson D., Åman P. 1989. Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. *Br. J. Nutr.* 62:139-149.
- Peyraud J. L., Genest - Rulquin Ch., Verité R. 1988. Mesure de la digestion de l'azote des aliments dans l'intestin des ruminants par la technique des sachets mobiles. 1. Evaluation de la quantité de matières azotées indigestibles en sachet des principaux aliments. *Reprod. Nutr. Dev.*, 28: 129–130.
- Pfister J. A. 1985. Technical notes: An effective fecal harness for free-grazing goats. *J. Range Manage.* 38:184–185.
- Philippeau C., Michalet-Doreau B., 1998. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. *J Dairy Sci.*, T. 81: 2178- 2184.
- Philippeau C., Le Deschault de Monredon F., Michalet-Doreau B. 1999. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. *J Anim Sci.*, 77:238-243.
- Pieszka M., Kamyczek M., Rudzki B., Łopuszańska-Rusek M., Pieszka M. 2015. Evaluation of the usefulness of hybrid rye in feeding Polish Holstein-Friesian dairy cows in early lactation. *Ann. Anim. Sci.* 15:929-943.
- Plaizier J. C., Krause D. O., Gozho G. N., McBride B. W. 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.*, 176: 21–31.
- PN-A-86927:1961. 1961. Edible vegetable fats - Determination of crystallization temperature. Polish Official Standard (in Polish).
- PN-EN ISO 6321:2004. 2004. Animal and vegetable fats and oils - Determination of melting point in open capillary tubes (slip point). Polish Official Standard (in Polish).
- PN-EN ISO 707:2009. 2009. Mleko i przetwory mleczne - Wytyczne do pobierania próbek. Polski Komitet Normalizacyjny.

- PN-EN ISO 660:2010. 2010. Animal and vegetable fats and oils - Determination of acid value and acidity. Polish Official Standard (in Polish).
- PN-ISO 3976:2014-11. 2014. Milk fat - Determination of peroxide value. Polish Official Standard (in Polish).
- Pointillart A., Fourdin A., Fontaine N. 1987. Importance of cereal phytase activity for phytate phosphorus utilization by growing pigs fed diets containing triticale or corn. *J. Nutr.* 117:907-913.
- Ragae S. M., Campbell G. L., Scoles G. J., McLeod J. G., Tyler R. T. 2001. Studies on rye (*Secale cereale* L.) lines exhibiting a range of extract viscosities. 1. Composition, molecular weight distribution of water extracts, and biochemical characteristics of purified water-extractable arabinoxylan. *J. Agric. Food Chem.* 49:2437-2445.
- Rajtar P., Górká P., Schwarz T., Micek P. 2020. Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Annals of Animal Science* 20 (3): 1065-1083.
- Rémond D., Cabrera - Estrada J. I., Champion M., Chauveau B., Coudure R., Poncet C. 2004. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87: 1389–1399.
- Robertson J. B., Van Soest P. J. 1981. The detergent system analysis and its application to human foods. In “The analysis of dietary fiber in food”, ed. by J. Theander, Dekker INC, pp. 123–157.
- Rodehutsord M., Rückert C., Maurer H. P., Schenkel H., Schipprack W., Bach Knudsen K. E, Schollenberger M., Laux M., Eklund M., Siegert W. 2016. Variation in chemical composition and physical characteristics of cereal grains from different genotypes. *Arch. Anim. Nutr.* 70:87–107.
- Saitov V., Gataullin R., Saitov A. 2020. Electrical control scheme of the machine for isolation of toxic ergot from rye grain. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering.* 918, 012135.
- Salmenkallio-Marttila M., Hovinen S. 2005. Enzyme activities, dietary fibre components and rheological properties of wholemeal flours from rye cultivars grown in Finland. *J. Sci. Food Agric.* 85:1350-1356.
- Santos J.E.P., Huber J. T., Theurer C. B., Nussio L. G., Tarazon M., Santos F.A.P., 1999. Response of Lactating Dairy Cows to Steam-Flaked Sorghum, Steam-Flaked Corn,

- or Steam-Rolled Corn and Protein Sources of Differing Degradability. *J Dairy Sci.*, T. 82, 4:728–737.
- SAS. 2002. The SAS System Version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Schiano A. N., Harwood W. S., Drake M. A. 2017. A 100-year review: Sensory analysis of milk. *J. Dairy Sci.*, 100: 9966–9986.
- Schwarz T., Kuleta W., Turek A., Tuz R., Nowicki J., Rudzki B., Bartlewski P. M. 2015. Assessing the efficiency of using a modern hybrid rye cultivar for pig fattening, with emphasis on production costs and carcass quality. *Anim. Prod. Sci.* 55:467-473.
- Seifried N., Steingass H., Schipprack W., Rodehutsord M. 2016. Variation in ruminal in situ degradation of crude protein and starch from maize grains compared to in vitro gas production kinetics and physical and chemical characteristics. *Arch. Anim. Nutr.*, 70:333–349.
- Sharma H. R., Ingalls J. H., McKirdy J. A., Sanford L. M. 1981. Evaluation of rye grain in the diets of young Holstein calves and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 64: 441–448.
- Sharma H. R., Ingalls J. R., McKirdy J. A. 1983. Feeding value of alkali-treated whole rye (*Secale cereale* L.) grain for lactating cows and its digestibility for sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 10: 77–82.
- Silveira C., Oba M., Yang W. Z., Beauchemin K. A. 2007. Selection of barley grain affects ruminal fermentation, starch digestibility, and productivity of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2860–2869.
- Slots T., Butler G., Leifert C., Kristensen T., Skibsted L. H., Nielsen J. H. 2009. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *J. Dairy Sci.*, 92: 2057–2066.
- Sosulski F. W., Minja L. A., Christensen D. A. 1988. Trypsin inhibitors and nutritive value in cereals. *Plant Foods Hum. Nutr.* 38:23-34.
- Strang E. J. P., Eklund M., Rosenfelder P., Sauer N., Htoo J. K., Mosenthin R. 2016. Chemical composition and standardized ileal amino acid digestibility of eight genotypes of rye fed to growing pigs. *J. Anim. Sci.* 94:3805-3816.
- Stuper-Szablewska K., Perkowski J. 2017. Level of contamination with mycobiota and contents of mycotoxins from the group of trichothecenes in grain of wheat, oats, barley, rye and triticale harvested in Poland in 2006-2008. *Ann. Agric. Environ. Med.* 24:49-55.

- Sullivan Z., Honeyman M., Gibson L., McGuire J., Nelson M. 2005. Feeding small grains to swine. Iowa State University Extension, Ames, Iowa.
- Südekum K. H., Brandt M. 1994. Site and extent of cell-wall neutral monosaccharide digestion in dairy cows receiving diets with rolled cereal grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 46: 307–320.
- Svihus B., Uhlen A. K., Harstad O. M. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 122: 303–320.
- Święcicki W.K., Surma M., Koziara W., Skrzypczak G., Szukała J., Bartkowiak-Broda I., Zimny J., Banaszak Z., Marciniak K., 2011. Nowoczesne technologie w produkcji roślinnej – przyjazne dla człowieka i środowiska. *Polish Journal of Agronomy*, 7: 102-112.
- Tagliapietra F., Cattani M., Hansen H., Hindrichsen I., Bailoni L., Schiavon S. 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h in situ NDF digestibility and on in vitro 24 h gas production methods. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 170: 182–191.
- Taylor M. W., MacGibbon A. K. H. 2011. Milk lipids.. General characteristics. In: *Encyclopedia of dairy sciences*. Roginski H., Fuquay J.W., Fox P.F. (Eds.), Academic Press, London, UK, 649-654.
- Teasdale J. R. 1996. Contribution of cover crops to weed management in sustainable agricultural systems. *J. Prod. Agric.* 9:475-479.
- Thuścik F., Kozubek A., Mejbaum-Katzenellebogen W. 1981. Alkylresorcinols in rye (*Secale cereale* L.) grains. VI. Colorimetric micromethod for the determination of alkylresorcinols with the use of diazonium salt, Fast Blue B. *Acta Soc. Bot. Polon.* 50: 645–651.
- Wenk, C. 2001. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. *Anim. Feed Sci. Technol.* 90:21-33.
- Wiersma J., Wells S., Garcia A. 2018. Winter rye field crop trials results. Minnesota Agricultural Experiment Station. University of Minnesota, St. Paul, MN.
- Wildman E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, Jr., and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65:495
- Wilman D., Adesogan A. 2000. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. *Anim. Feed Sci. Tech.* 84; 33-47.

- Zhang J., Zheng N., Shen W., Zhao S., Wang J. 2020. Synchrony degree of dietary energy and nitrogen release influences microbial community, fermentation, and protein synthesis in a rumen simulation system. *Microorganisms*, 8 (2); 231-252.
- Zhao Y., Yan S., He Z., Anele U. Y., Swift M. L., McAllister T. A., Yang W. 2016. Effect of starch content and processing method on in situ ruminal and in vitro intestinal digestion of barley grain in beef heifers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 216:121–128.
- Ziajka S. 2008. *Dairying 1*. Olsztyn: The University of Warmia and Mazury Publisher, 2008, 388 p. ISBN 978-83-7299-536-0.
- Zuber T., Miedaner T., Rosenfelder P., Rodehutsord M. 2016. Amino acid digestibility of different rye genotypes in caeectomised laying hens. *Arch. Anim. Nutr.* 70:470-487.

8. Streszczenie w języku polskim

Ze względu na niższą przydatność paszową w stosunku do innych gatunków zbóż ziarno żyta nie było dotychczas chętnie stosowane w żywieniu krów mlecznych. Nowe, hybrydowe odmiany żyta charakteryzują się podwyższoną wartością pokarmową ziarna, jednak ich wpływ na produktywność zwierząt nie był wystarczająco poznany. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było określenie możliwości zastosowania ziarna żyta odmiany hybrydowej jako alternatywy dla ziarna kukurydzy w żywieniu przeżuwaczy, w szczególności krów mlecznych.

Badania podzielono na trzy etapy: i/ badania rozkładu w żwaczu i strawności jelitowej suchej masy, białka i skrobi ziarna żyta odmiany hybrydowej oraz ziarna kukurydzy rozdrobnionych przy wykorzystaniu różnych metod (całe ziarno, śruta 4,0 i 1,5 mm, ziarno gniecione) - doświadczenie wykonane na 3 krowach wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy; ii/ badania fizjologiczno-żywniowe z udziałem ziarna kukurydzy oraz ziarna żyta odmiany hybrydowej lub populacyjnej wykonane w układzie kwadratu łacińskiego (3×3) na 6 owcach wyposażonych w kaniule do żwacza i dwunastnicy oraz iii/ badania produkcyjne na krowach mlecznych w pełnej laktacji (16 sztuk) wykonane z udziałem ziarna kukurydzy oraz ziarna żyta odmiany hybrydowej.

W pierwszym etap badań (i) stwierdzono, że skrobia i BO ziarna żyta są bardziej podatne na fermentację w żwaczu niż ziarno kukurydzy a sposób przetwarzania ziarna może mieć wpływ na miejsce i stopień ich rozkładu w przewodzie pokarmowy przeżuwaczy. Niezależnie od gatunku zboża, większemu rozdrobnieniu ziarna towarzyszył wyższy rozkład jego składników w żwaczu i strawność jelitowa. Ponadto ustalono, że większy wpływ zastosowanej metody obróbki ziarna na badane wskaźniki występował u kukurydzy niż u żyta. Efektywny rozkład w żwaczu skrobi ziarna żyta zwiększał się z 18,3% (całe ziarno), przez 25,3% (śruta 4,0 mm) i 50,5% (ziarno gniecione) do 96,0% (śruta 1,5 mm). Maksymalną wartość ERŻ skrobi ziarna kukurydzy (57,5%) odnotowano dla śruty 1,5 mm, przy czym wykazano wyższy ERŻ skrobi ziarna śrutowanego 4,0 mm niż ziarna gniecionego (odpowiednio 50,5% i 36,9%; $P < 0,01$). Strawność jelitowa skrobi ziarna żyta zwiększała się z 56,4% (całe ziarno) do 100% (śruta 1,5 mm), natomiast ziarna kukurydzy odpowiednio z 19,9% do 98,0%.

W drugim etapie badań (ii) użyto owiec jako zwierząt modelowych w celu określenia wpływu gatunku i odmiany zbóż na procesy fermentacyjne w żwaczu i strawność składników pokarmowych ziarna w różnych odcinkach przewodu pokarmowego przeżuwaczy. Skarmianie ziarna żyta w dawkach pokarmowych dla owiec, zarówno

odmiany hybrydowej, jak i populacyjnej, nie miało wpływu na stężenie LKT i amoniaku w płynie żwacza, na pH, a także na strawność składników pokarmowych w żwaczu i jelitach. Natomiast, skrobia żytnia była szybciej fermentowana w żwaczu niż skrobia kukurydziana, co powodowało niższe pH płynu żwacza u zwierząt żywionych z udziałem żyta, niezależnie od zastosowanej odmiany. Statystycznie różnice pomiędzy grupą zwierząt otrzymującą ziarno kukurydzy a grupami otrzymującymi ziarno żyta (niezależnie od odmiany) uzyskano dla takich wskaźników jak pobranie skrobi ($P < 0,01$; odpowiednio 179 vs 157 g/d), przepływ skrobi do dwunastnicy ($P = 0,02$), trawienie skrobi w odcinku przewodu pokarmowego do dwunastnicy ($P = 0,04$) oraz ilość skrobi strawionej w jelitach ($P = 0,04$). Nie obserwowano różnic pomiędzy grupami badawczymi w scpp skrobi, ponieważ składnik ten ulegał prawie całkowitemu strawieniu.

W trzecim etapie badań (iii) ustalono wpływu hybrydowego ziarna żyta na wydajność, skład chemiczny i przydatność technologiczną mleka. W doświadczeniu produkcyjnym na krowach mlecznych wykazano, że zastąpienie ziarna kukurydzy ziarnem żyta hybrydowego w dawce pokarmowej dla krów w pełnej laktacji nie wpływało negatywnie na pobranie SM ($P > 0,05$) oraz na wydajność mleka (28,61 vs. 27,26 kg/dzień; $P > 0,05$). Mleko pochodzące od krów żywionych z udziałem ziarna żyta miało tendencję do wyższej zawartości białka i tłuszczu w mleku oraz numerycznie wyższej sumy nienasyconych kwasów tłuszczowych ($P = 0,09$), natomiast niższej zawartość C14:0 ($P = 0,09$) i C16:0 ($P = 0,05$). Ponadto, mleko pochodzące od zwierząt z grupy otrzymującej ziarno żyto charakteryzowało się wyższym udziałem kazeiny ogółem w białku mleka oraz wyższą ogólną oceną wskaźników sensorycznych mleka ($P = 0,02$), oraz konsystencją ($P = 0,03$) i smakiem ($P = 0,01$), bez negatywnego wpływu na jakość i przydatność technologiczną mleka.

Podsumowując, przeprowadzone badania wykazały, że ziarno żyta odmiany hybrydowej może być alternatywą dla ziarna kukurydzy w żywieniu krów mlecznych w pełnej laktacji. Na podkreślenie zasługuje jednak fakt, że w porównaniu z ziarnem kukurydzy, dawki pokarmowe z udziałem ziarna żyta mają niższy potencjał do stymulowania produkcji mleka, co może znacząco ograniczyć wydajność zwierząt w szczycie laktacji.

9. Abstract

Due to the lower nutritive value, in relation to other types of cereals, rye grain has not been eagerly used in the feeding of dairy cows so far. The new, hybrid varieties of rye are characterized by an increased nutritional value of the grain, but their impact on the productivity of animals has not been sufficiently studied.

The aim of this doctoral dissertation was to determine the possibility of using hybrid variety of rye grain as an alternative to maize grain in the nutrition of ruminants, in particular dairy cows.

The research was divided into three stages: i / studies of rumen degradation and intestinal digestibility of dry matter, crude protein and starch of hybrid rye grain and maize grain processed by various methods of grain fragmentation (whole grain, crushed grain and ground to pass through 4.0 and 1.5 mm screen diameter) - experiment carried out on 3 cows fitted with rumen and duodenal cannulas; ii / physiological and nutritional studies with maize grain and rye grain of hybrid or traditional cultivars in the Latin square (3×3) system on 6 sheep fitted with rumen and duodenal cannulas, and iii / performance studies on mid-lactation dairy cows (16 animals) fed with maize or hybrid rye grain.

In experiment I (i), it was found that starch and crude protein of hybrid rye grain are more susceptible to rumen fermentation than maize grain, and the way of grain processing may affect the place and degree of their degradation in the digestive tract of ruminants. Regardless of the type of grain, greater grain fragmentation was accompanied by a higher rumen degradation and intestinal digestibility. Moreover, it was established that the effect of the applied fragmentation method on the examined indicators was greater in maize grain than in rye grain. The effective rumen degradability (ERD) of rye grain starch increased from 18.3% (whole grain), through 25.3% (4.0 mm) and 50.5% (crushed grain) to 96.0% (1.5 mm). The maximum ERD of maize grain starch (57.5%) was recorded for 1.5 mm grain diameter, with higher ERD for 4.0 mm than crushed grain (50.5% and 36.9%, respectively; $P < 0,01$). The intestinal digestibility of rye grain starch increased from 56.4% (whole grain) to 100% (1.5 mm), while maize grains increased from 19.9% to 98.0%, respectively.

In second trial (ii), sheep were used as model animals to determine the effect of the species and variety of cereals on the rumen fermentation processes and the digestibility of grain nutrients in different gastrointestinal part of digestive tract of ruminants. Feeding rye grain in rations for sheep, both hybrid or traditional, had no effect on the concentration of VFA and ammonia in the rumen fluid, on the pH, and on the digestibility of nutrients

in the rumen and intestines. In contrast, regardless of the variety, rye starch was fermented in the rumen faster than maize starch, which resulted in a lower pH of the rumen fluid. Differences between the group of animals fed maize grain or rye grain (regardless of the variety) were found for starch intake ($P < 0.01$; 179 vs 157 g/d, respectively), starch flow to the duodenum ($P = 0.02$), starch digested up to duodenum ($P = 0.04$) and the amount of starch digested in the intestines ($P = 0.04$). There were no differences between the study groups in the total tract digestibility of starch as this component was almost completely digested.

In the third stage of the research (iii), the influence of hybrid rye grain on the dry matter intake, milk yield, chemical composition and technological processing suitability of milk was determined. In a production experiment, it was shown that replacing maize grain with hybrid rye grain in the TMR diet for mid-lactation dairy cows did not negatively affect a dry matter intake ($P > 0.05$) and milk yield (28.61 vs. 27.76 kg / day; $P > 0.05$). Milk from cows fed rye grain tended to have a higher protein and fat content in milk and a numerically higher sum of unsaturated fatty acids ($P = 0.09$), while a lower content of C14:0 ($P = 0.09$) and C16:0 ($P = 0.05$). Moreover, milk from animals from the group received hybrid rye grain was characterized by a higher share of total casein in milk protein and a higher overall indicators of milk sensory evaluation ($P = 0.02$), as well as consistency ($P = 0.03$) and taste ($P = 0.01$), without adversely affecting the quality and technological suitability of milk.

In conclusion, the studies showed that hybrid rye grain can be an alternative energy source to maize grain in the feeding of mid-lactation dairy cows. However, compared to maize grain, the TMR diet with rye grain has a lower potential to stimulate milk production, which may significantly reduce the animal's performance at the peak of lactation.



EFFECT OF HYBRID RYE AND MAIZE GRAIN PROCESSING ON RUMINAL AND POSTRUMINAL DIGESTIBILITY PARAMETERS*

Patrycja Rajtar¹, Paweł Górka¹, Tomasz Schwarz², Piotr Micek¹

¹Department of Animal Nutrition and Dietetics,

²Department of Swine and Small Animal Breeding,

University of Agriculture in Kraków, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland

Corresponding author: rmicek@cyf-kr.edu.pl

Abstract

The aim of the study was to determine the effect of the method of fragmentation of hybrid rye and maize grain on digestibility parameters for ruminants. Varying degrees of fragmentation – none (whole grains; WG), crushed (CG) or ground to pass through a 4.0 (GG4.0) or 1.5 mm (GG1.5) screen – were estimated by the *in sacco* nylon bag technique, *in vitro* true digestibility (IVTD), and the *in vitro* gas production (GP) technique. WG, CG, GG4.0 and GG1.5 were categorized as none, slight, moderate and extensive fragmentation of the grain kernel, respectively. Three non-lactating cows fitted with ruminal and duodenal cannulas were used to determine the effective rumen degradability (ERD) and intestinal and total tract digestibility (ID and TTD, respectively) of dry matter (DM), crude protein (CP) and starch. IVTD was determined with an ANKOM Daisy^{II} Incubator, and GP and *in vitro* organic matter digestibility were determined with an ANKOM^{RF} Gas Production System. Dry matter, CP and starch of hybrid rye grain were rapidly degraded in the rumen, and this degradability as well as ID and TTD was only marginally affected by the method of kernel fragmentation; however, among the methods used, the ERD of GG4.0 rye was the lowest. On the other hand, the greater the degree of kernel fragmentation, the higher ERD, ID and TTD were obtained for the DM, CP and starch of maize grain. In summary, rye grain is more susceptible to fermentation in the rumen than maize grain, but the means of grain processing may alter the rate, extent and site of their digestion, particularly for maize grain.

Key words: cereal grain, hybrid rye, processing, *in vitro* technique, digestibility

Maize grain is one of the most popular cereal grains used in diets for ruminants. However, due to the relatively high prices of maize grain and some difficulties in maize cultivation (e.g. low resistance to drought and increasing difficulties in controlling pests), a search for alternatives to maize grain in ruminant nutrition is justi-

*This study was supported by funds from the National Centre for Research and Development (NCRD), ENERGYFEED grant, project No BIOSTRATEG2/297910/12/NCBR/2016.

fied. Compared to maize, hybrid varieties of rye are resistant to disease and frost and are less often contaminated with mycotoxins (Grajewski et al., 2012). Furthermore, the yield potential of hybrid varieties of rye is higher and much more stable than that of open-pollinated varieties (Petr, 2005).

Compared with the starch of maize grain, rye grain starch is rapidly fermented in the rumen (Micek, 2008; Benninghoff et al., 2015; Krieg et al., 2017), which may increase the risk of ruminal acidosis (Plaizier et al., 2009). This, in combination with the lower energy content of rye grain as compared to maize grain (NRC, 2001), often leads to unwilling use of rye grain in diets for high-yielding dairy cows or finishing beef cattle (Micek, 2008). In contrast, when ruminants are fed grain containing starch that degrades slowly in the rumen, such as maize, substantial quantities of starch may avoid microbial fermentation in the rumen and become available for digestion in the small intestine (Tothi et al., 2003). Although post-ruminal starch digestion is energetically more favourable for ruminants (Sauvant, 1997), excessive starch escape from the rumen may limit microbial protein synthesis in the rumen, and thus the amount of protein available to the animal (Wang et al., 2009). Furthermore, because intestinal starch digestion in ruminants is limited (Owens et al., 1986), an excessive amount of starch entering the small intestine may cause starch to flow into the colon, leading to undesired starch fermentation in this part of the gastrointestinal tract (Mills et al., 1999).

Several strategies have been developed to accelerate or slow down the digestion kinetics of cereal grains in the rumen, depending on the intensity of grain fermentation in the rumen and the desired impact on livestock performance (Svihus et al., 2005). Physical processing of cereal grains for ruminants usually involves grinding (milling), cracking, flaking (rolling) or steam-flaking. Of these methods, cereal grains are commonly ground prior to feeding to increase nutrient availability as well as to facilitate mixing of grain with other feeds. Grinding breaks the pericarp, resulting in greater exposure of the endosperm to digestive enzymes. Therefore, the rate of starch digestion in the rumen increases inversely to the extent of kernel fragmentation (Ørskov, 1986). However, the final results of grain kernel processing can vary between cereal species or even cultivars. For example, the number of broken starch granules during grinding is influenced by the strength of the bond between the starch and the protein matrix surrounding the starch granules. In maize, the bond between the protein and starch is quite strong, resulting in a large number of broken starch granules in ground material (Hoseney, 1994) and a large surface area for digestion, which may at least partly explain why grinding increases ruminal degradation of starch more in maize than in rye, barley or wheat (Svihus et al., 2005; Micek, 2008).

The effects of cereal grain fragmentation and other grain processing methods on nutrient utilization by ruminants have been reviewed extensively (Ørskov, 1986; Rowe et al., 1999; Svihus et al., 2005). However, most studies have focused on the effect of physical treatment of grain on starch utilization, while much less attention has been devoted to crude protein (CP) utilization. When cereal grains account for a substantial proportion of dietary dry matter (DM), e.g. in diets for high-yielding cows or finishing beef cattle, a significant amount of protein is also supplied with cereal grains. Therefore, a full characterization of the nutritional value of cereal grains

for ruminants requires knowledge not only of starch degradation in the rumen, but also protein degradation, as well as its post-ruminal digestion (Woods et al., 2003).

The hypothesis of this study was that although rye grain is more rapidly degraded in the rumen than maize grain, the site of its digestion along the gastrointestinal tract could be altered by grain fragmentation. The specific aim of the study was to characterize the ruminal degradability and post-ruminal digestibility of the DM, CP and starch of whole, crushed and coarsely or finely ground rye and maize grain using *in sacco* and *in vitro* methods.

Material and methods

The study was conducted at the Department of Animal Nutrition and Dietetics of the University of Agriculture in Krakow, Poland. Three fistulated cows were kept at the National Research Institute of Animal Production (Balice, Poland). Animal care procedures followed the recommendations of the Local Ethics Committee (Krakow, Poland).

Materials

Rye grain of a hybrid variety (Brasetto cultivar; KWS Lochow, Prusy, Poland) and maize grain (Podium cultivar; KWS Lochow, Prusy, Poland) were i) not processed (whole grain; WG), ii) crushed (with a ROmiLL S100 mill, BAG Polska, Krzemieniewo, Poland; CG); or ground (with a Pulverisette 15 Laboratory Cutting Mill, Fritsh GmbH, Idar-Oberstein, Germany) to pass through a iii) 4.0 mm sieve (coarsely ground; GG4.0) or iv) 1.5 mm sieve (finely ground; GG1.5). WG, CG, GG4.0 and GG1.5 were categorized as none, slight, moderate and extensive fragmentation of grain kernel. The aim of this study was to establish whether rye grain degradability in the rumen and post-ruminal digestion can be altered to any extent by processing intensity and method. Representative photos of processed cereal grains are presented in Figure 3.

In sacco measurements

Dry matter, CP and starch degradation in the rumen was determined *in situ* using the nylon bag technique as described by Ørskov and McDonald (1979) with minor modification (Kowalski et al., 1995). Three non-lactating Holstein-Friesian cows (610 ± 30 kg) fitted with rumen cannulas and a T-shaped (gutter flange) duodenal cannulas were used for the study. The animals were fed 7.6 kg of DM/day of a diet consisting of 70% hay and 30% concentrate (DM basis). Feed was supplied in two equal meals at 8 a.m. and 4 p.m. The animals had free access to water and salt licks.

Four separated runs of the analysis for each cow were completed with 2 feeds incubated simultaneously within each run (4 runs \times 2 feeds). Additionally, each run was accompanied by 2 bags of standard feed (grass hay, 8 h of incubation) per cow with known DM. There were no differences between runs in DM degradability of standard feed and no corrections of *in situ* results were made.

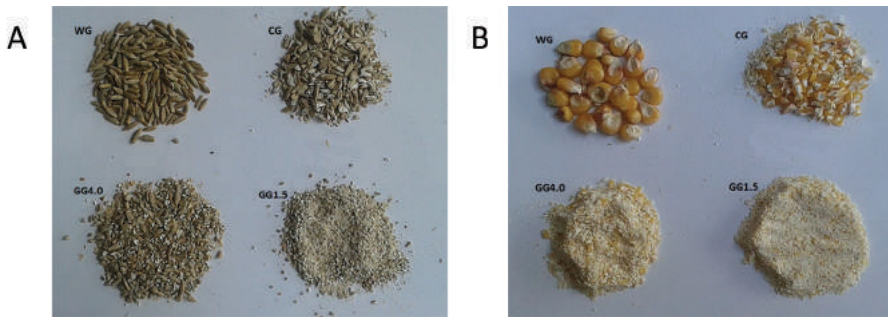


Figure 3. Rye grain of hybrid variety (A) and maize grain (B) processed to obtain four degrees of kernel fragmentation: whole grain (WG), crushed (CG), or ground to pass through a 4.0 mm sieve (coarsely ground; GG4.0) or a 1.5 mm sieve (finely ground; GG1.5)

Samples of 3.2 g of whole or processed grains were weighed into nylon bags (Ankom Technology, Fairport, NY, USA; pore size 50 μm ; internal dimensions: 7 \times 12 cm), yielding a ratio of sample mass per bag area of 19 mg/cm². Bags were introduced in the rumen at the same time just before the morning feeding and pulled out after 2, 4, 8, 16, 24, 48 or 72 h of incubation. Twenty four measurements (eight replications for each of three cows) were made for each incubation time and each feed. After removal from the rumen, the bags were rinsed in cold water and frozen (-20°C). After delivery to the laboratory, the bags were thawed and washed in a washing machine with two successive 10 min washings without centrifugation. Then they were dried at 60°C for 48 h and weighed. Residues from bags for each animal and for each incubation time separately were then pulled and used for performance of chemical analysis. Bags with samples of feed not incubated in the rumen (zero incubation time), handled similarly to the incubated ones, were used to estimate washing losses from bags. Prior to washing procedures, these bags were soaked in warm water (39°C) for 30 min.

Intestinal digestibility was determined as previously described by Peyraud et al. (1988) using polyester nitrogen-free bags (Ankom Technology; 6 \times 6 cm, pore size 50 μm). Before incubation, the bags were rinsed with acetone and oven-dried for 1 h at 105°C , and then filled with 1.2 g of sample, which was about 1.0 g of DM per bag. Four separate runs for each cow were completed with 2 samples (feeds) per run and twelve bags used per each sample (2 sample \times 12 bags). Additionally, 2 bags of standard feed (grass hay) per cow and per run were always analysed. Bags were pre-incubated in the rumen for 16 h. Incubation began before afternoon feeding and was completed before morning feeding the next day. After removal from the rumen, the bags were pre-rinsed with tap water and then incubated at 39°C for 2.5 h in pepsin-HCl solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; 3 g of pepsin per 1 L of 0.1 n HCl, pH = 2.0). After incubation, the bags were rinsed with cold tap water and inserted into the duodenum (three bags simultaneously; 12 min intervals between sets of bags). Bags recovered from feces were pre-washed in tap water, then rinsed in a washing machine (two rinse cycles without centrifugation) and dried in an air-

forced oven at 55°C for 48 h, cooled in desiccators, and weighed. Residues from bags for each animal and for each sample were then pulled and used for performance of chemical analysis. Only bags recovered from feces within 24 h after insertion into the duodenum were used in this procedure.

***In vitro* true digestibility**

In vitro true digestibility (IVTD) was carried out using F57 bags (Ankom Technology; 50 × 55 mm, pore size 25 µm) according to ANKOM Technology Method 3 (https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/Method_3_Invitro_D200_D200I.pdf). The bags were rinsed in acetone for 5 min, dried (2 h, 105°C) and weighed. Exactly 0.250 g of sample was weighed into the bag and then the bag was heat-sealed. At the same time, eight bags with each feed were incubated in four jars (2 bags per jar) and this procedure was repeated 3 times (3 runs). One bag per jar was left empty (blank sample) and one bag per jar was filled with a standard feed (grass hay with known IVTD). Pre-warmed buffer A (KH₂PO₄ – 10.0 g/L, NaCl – 0.5 g/L, MgSO₄ × 7H₂O – 0.5 g/L, CaCl₂ × 2H₂O – 0.1 g/L, Urea – 0.5 g/L; 39°C) and buffer B (Na₂CO₃ – 15.0 g/L, Na₂S × 9H₂O – 1.0 g/L; 39°C) were mixed in a 5:1 ratio, and the pH was adjusted to 6.8. A 160 mL volume of buffer solution was poured into each jar. Bags with samples were placed in the incubation jars 20 min before starting the incubation (this was the time necessary to prepare the inoculum).

Rumen digesta (both fluid and solid fractions) were collected before morning feeding from the three Holstein-Friesian cows previously used for the *in sacco* measurements. The digesta was blended (Standmixer, Bosch, type CNSM03ST) at the highest speed for 30 s and then filtered through four layers of cheesecloth into a pre-heated (39°C) beaker. A 400 mL volume of filtered mixed digesta was added to each jar with buffer solution. The samples were incubated in a Daisy^{II} Incubator (Ankom Technology) for 24 h at 39°C. The inoculum was purged for 30 s with CO₂ at each step of handling and preparation.

Bags removed from incubation jars were rinsed with cold tap water and placed in an ANKOM²⁰⁰ Fiber Analyzer (Ankom Technology). The procedure described below for NDF determination was followed. After analysis, the bags were dried to constant weight in an air-forced oven at 55°C, cooled in desiccators and weighed. IVTD was calculated as follows:

$$\%IVTD = (DM \text{ basis}) = \frac{100 - (W_3 - [W_1 \times C_1])}{([W]_2 \times DM)}$$

where:

W_1 = bag tare weight (g),

W_2 = sample weight (g),

W_3 = final bag weight after *in vitro* incubation and sequential neutral detergent treatment (g), C_1 = blank bag correction (final oven-dried weight/original blank bag weight).

Gas production technique

In vitro gas production (GP) was determined using the ANKOM RF Gas Production System (Ankom Technology). The system consisted of 12 bottles equipped with pressure sensors (RF modules with a lid), a receiving base station, and a computer. For all experimental samples a total of 48 bottles ([4 treatments \times 2 cereal species + 2 blanks + 2 standard feed = 12) in 4 separate runs (12 \times 4 = 48]) were incubated. A standard feed was a grass hay with known GP24 and GP kinetics. Air-dried samples of feeds (500 mg) were weighed in triplicate into 250 mL glass bottles and incubated overnight in a buffered solution (Goering and Van Soest, 1970) at 39°C. Rumen digesta was collected as described for IVTD measurements. The digesta was filtered through two layers of cheesecloth and mixed with the buffer in a 1:5 ratio. A 125 mL volume of this mixture was poured into each bottle with a sample. Glass bottles were purged with CO₂, closed with the lid, and incubated in a water bath with shaker for 24 h at 39°C. Gas pressure in the bottles was recorded every 10 min. Then the gas pressure change during 24 h of incubation (ΔP) was converted to gas volume (GP24, mL) using the ideal gas law (Tagliapietra et al., 2011):

$$GP24 = (\Delta P/P_o) \times V_o$$

where:

ΔP = cumulated pressure change (psi) in the bottle headspace,

V_o = bottle headspace volume (ml),

P_o = atmospheric pressure measured by the equipment at the beginning of the study.

The final GP24 volume of bottles with no feed (blank) was subtracted from the final GP24 volume for bottles with feed to correct for baseline fermentation in the rumen fluid. *In vitro* organic matter digestibility (OMD) of samples was calculated from the volume of gas produced according to an equation proposed by Menke and Steingass (1988):

$$OMD (\%) = 14.88 + 0.889GP200 + 0.45CP + 0.065Ash$$

where:

$GP200$ = cumulative gas production during 24 h incubation expressed in mL per 200 mg of DM,

CP = crude protein content in the sample (% DM),

Ash = crude ash in the sample (% DM).

Chemical analysis

Air-dried samples of rye and maize grain were ground to pass through a 1 mm sieve and analysed for content of DM, ash, CP and ether extract (EE) using standard analytical procedures (procedure nos. 934.01, 942.05, 976.05 and 920.39, for DM, ash, CP and EE, respectively; AOAC, 2005). Neutral detergent fibre, performed with heat-stable amylase (NDF; Mertens, 2002), acid detergent fibre (ADF; AOAC,

2005; official method 973.18), and acid detergent lignin (ADL; Robertson and Van Soest, 1981) were determined using an Ankom²²⁰ Fiber Analyzer (Ankom Technology). The starch content was determined by an enzymatic method (Faisant et al., 1995). The same procedures were used for chemical analyses of the residues from the *in sacco* measurements and *in vitro* technique (IVTD). Total content of non-starch polysaccharides (T-NSP), including water-soluble non-starch polysaccharides (WS-NSP) and water-insoluble non-starch polysaccharides (WIS-NSP), was determined by chromatography (Englyst and Cummings, 1984) as the sum of sugars: rhamnose, fructose, arabinose, xylose, mannose, galactose and glucose. Total dietary fibre (TDF; method no. 32-25; AACC, 2011) was determined as the sum of T-NSP, uronic acids, resistant starch and lignin.

Calculations and statistical analysis

Effective rumen degradability (ERD) and degradation constants (A, B, C) were calculated by the Marquardt method (NLIN procedure of SAS; SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) using an equation proposed by Ørskov and McDonald (1979):

$$ERD (\%) = A + ([B \times C]/[C + k])$$

where:

- A = soluble fraction immediately degraded in the rumen (%),
- B = fraction degraded in the rumen at rate C (%),
- C = rate of rumen degradability of fraction B (%/h),
- k = rate of outflow from the rumen 0.06/h.

Intestinal digestibility (ID) coefficients of by-pass DM, CP and starch were calculated according to Kowalski et al. (1995):

$$ID (\%) = 100 \times (F \times [100 - RD_{16}] - F \times [100 - TTD]) / (F \times [100 - RD_{16}])$$

where:

- F = DM or nutrient contents is sample before incubation (g),
- RD₁₆ = 16 h rumen degradability (%),
- TTD = total tract digestibility (TTD (%)) = 100 × [F - G] / F,
- F = DM or nutrient contents is sample recovered from feces (g).

To calculate ID and total tract digestibility (TTD), 16 h ruminal degradability from the previously described *in situ* study was considered.

Data were subjected to two-way analysis of variance using PROC MIXED in SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). The statistical model included the effect of the cereal type (maize vs rye), grain fragmentation (WG, CG, GG4.0 or GG1.5), and the cereal type × grain fragmentation interaction, as fixed effects. When a significant effect of the interaction was found, means were separated using the PDIF procedure in SAS with Duncan's adjustment. Data from *in sacco* studies (rumen degradability and intestinal digestibility parameters) were analysed by considering cow as the

experimental unit. For *in situ* data, the calculations were performed for each animal, using the incubated bags at each time point as repeated measurements. IVTD data were analysed as a randomized complete block design, in which the incubation series (runs) was considered as a block and the mean value of the two bags of each sample in each experimental jar from each series as the experimental unit ($n = 12$). In the case of the results for 24 hour gas production (GP24) and organic matter digestibility (OMD), the model included individual bottles from each run as the experimental unit ($n=4$). Linear regression between selected parameters was calculated using the REG procedure of SAS. Data are presented as least squares means and standard error of the mean (SEM). Differences between means were considered significant at $P<0.05$.

Results

Compared with maize grain, rye grain had higher CP, NDF, ADF and ADL content, but lower starch and EE content (Table 1). T-NSP in rye grain was over two times higher than in maize grain, mainly due to WS-NSP content that was over five times higher in rye grain. Rye grain contained over twice as much TDF, arabinose, xylose and glucose, and over 10 times more galactose than maize grain.

Table 1. Chemical composition and carbohydrate structure of hybrid rye and maize grain (g/kg DM)

Item	Rye grain	Maize grain
Crude protein	125.6	102.0
Ether extract	16.1	54.6
Ash	20.9	15.5
Starch	767.5	823.9
NDF	205.2	102.1
ADF	60.2	48.2
ADL	29.9	21.0
NFC ¹	632.2	725.8
T-NSP ²	146.7	67.3
WIS-NSP ³	93.0	57.0
WS-NSP ⁴	53.7	10.3
TDF ⁵	187.0	91.0
Arabinose	33.0	14.1
Xylose	49.5	16.6
Mannose	6.2	4.8
Galactose	4.1	0.4
Glucose	53.9	28.2

¹Non-fibre carbohydrates; $NFC = 1000 - (NDF + CP + EE + Ash)$.

²Total content of non-starch polysaccharides.

³Water-insoluble non-starch polysaccharides.

⁴Water-soluble non-starch polysaccharides.

⁵Total dietary fibre.

Irrespective of grain processing, ERD of DM was higher for rye grain than for maize grain (cereal grain, $P < 0.001$; Table 2). Fragmentation of rye grain increased the ERD of DM from 10.3% for WG to over 75% for processed grain. For processed rye, ERD of DM was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5. For maize grain, ERD of DM increased with the degree of grain fragmentation, but did not exceed 55% (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P = 0.001$). Furthermore, the difference between fragmentation methods was as high as 44% (CG vs GG1.5). In the case of processed rye grain, fraction A of DM was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5, while for processed maize grain, fraction A increased from CG to GG4.0 to GG1.5 (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P = 0.001$).

The ID and TTD of DM for processed rye grain were close to or exceeded 90% (Table 2). On the other hand, the ID and TTD of DM for processed maize grain increased from CG to GG1.5, with values comparable to those observed for rye grain only for GG1.5 maize (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P \leq 0.026$). Furthermore, TTD of DM for WG rye was much higher than for WG maize (53.2 vs 17.7% for rye and maize grain, respectively).

Table 2. Effect of grain fragmentation on effective rumen degradability (ERD), degradability constants (A, B, C), intestinal digestibility (ID) and total tract digestibility (TTD) of dry matter of hybrid rye and maize grain

Item	Grain fragmentation ¹	A (%)	B (%)	C (%/h)	ERD (%)	ID (%)	TTD (%)
Cereal grain	Rye WG	1.6 e	96.7 a	1.2 c	10.3 g	45.3 e	53.2 d
	CG	52.3 b	41.7 ef	11.3 b	79.8 b	92.3 a	93.5 a
	GG4.0	27.6 c	63.5 cd	19.0 a	75.8 a	89.3 b	90.9 b
	GG1.5	65.7 a	28.3 f	18.3 a	86.8 c	91.9 a	93.2 a
Maize	WG	1.1 e	50.6 de	0.5 c	4.4 h	13.6 f	17.7 e
	CG	2.2 e	97.1 a	2.2 c	30.9 f	52.6 d	54.8 d
	GG4.0	11.2 d	88.2 ab	4.3 c	47.3 e	74.3 c	75.5 c
	GG1.5	29.9 c	76.3 bc	4.1 c	54.8 d	93.0 a	93.3 a
Effect (P-value)	Grain (G)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.001
	Fragmentation (F)	<0.001	<0.001	0.036	<0.001	<0.001	<0.001
	G \times F ²	0.001	<0.001	0.002	0.001	0.026	0.003
SEM		1.76	3.47	0.98	0.56	2.46	2.31

^{a, b, c} Means within a column with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.01$).

¹WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – grain ground to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – grain ground to pass through 1.5 mm sieve.

²Interaction between cereal grain and grain fragmentation.

As in the case of ERD of DM, ERD of starch was much higher for rye grain than for maize grain (cereal grain, $P < 0.001$; Table 3), and grain fragmentation increased

the ERD of rye starch from 18.3% for WG to over 85% for processed grain. Starch of processed rye grain, especially CG and GG1.5, was rapidly degraded during the first 8 h of incubation in the rumen (Figure 1 A). On the other hand, the ERD of maize grain starch increased with the degree of grain fragmentation, but did not exceed 57.5% (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P=0.001$). Furthermore, as in the case of ERD of DM, ERD of starch for processed rye grain was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5, but the difference between processed grains did not exceed 11%, as compared with 36% differences between differently processed maize grains. For processed rye, fraction A of starch was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5, whereas for maize grain, fraction A increased from CG to GG4.0 to GG1.5 (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P=0.001$). The reverse results were observed for fraction B. Effective rumen degradability of starch for WG was very low.

Starch of processed rye grain was nearly completely digested in the total digestive tract (> 99%), whereas such high digestion of starch for maize grain was observed only for GG1.5 maize (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P=0.006$; Table 3). On the other hand, ID of starch for rye grain increased with grain fragmentation, whereas for maize grain it was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5; however, the difference between CG and GG4.0 was only 2%. It is worth noting that both ID and TTD of starch for WG rye exceeded 50%, whereas ID and TTD of starch for WG maize was under 25%.

Table 3. Effect of processing on degradability constants (A, B, C), effective rumen degradability (ERD), intestinal digestibility (ID) and total tract digestibility (TTD) of starch of hybrid rye and maize grain

Item	Grain fragmentation ¹	A (%)	B (%)	C (%/h)	ERD (%)	ID (%)	TTD (%)	
Cereal grain	Rye	WG	8.8 ef	86.9 ab	2.4 d	18.3 g	56.4 d	64.9 c
		CG	49.3 b	49.4 d	50.5 a	92.5 b	73.0 bc	99.2 a
		GG4.0	37.7 c	60.3 c	25.3 bc	85.5 c	87.2 b	99.1 a
		GG1.5	71.6 a	27.9 e	48.2 ab	96.0 a	100.0 a	100.0 a
Maize	WG	CG	1.2 f	36.5 e	0.1 d	4.6 h	19.9 e	24.9 e
		CG	3.5 f	96.0 a	2.3 d	36.9 f	58.7 c	61.3 d
		GG4.0	12.2 e	87.3 ab	4.2 cd	50.5 e	55.3 d	81.9 b
		GG1.5	21.4 d	78.3 b	4.0 cd	57.5 d	98.0 a	99.2 a
Effect (P-value)	Grain (G)	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
	Fragmentation (F)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
	G \times F ²	0.001	0.001	0.003	0.001	0.002	0.006	
SEM		1.66	1.87	1.09	0.21	2.61	2.26	

^{a, b, c} Means within a column with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.01$).

¹WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – grain ground to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – grain ground to pass through 1.5 mm sieve.

²Interaction between cereal grain and grain fragmentation.

Irrespective of grain processing, ERD of CP was about two times higher for rye grain than for maize grain (cereal grain, $P=0.001$; Table 4). Fragmentation of rye grain increased the ERD of CP from 15.9% for WG to 83.8% for processed grain. Most of the CP of processed rye grain was degraded in the first 8 h of incubation in the rumen (Figure 1 B). For processed rye, ERD of CP was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5. ERD of CP for maize grain increased with the degree of grain fragmentation (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P<0.001$), and difference between fragmentation methods was as high as 51% (CG vs GG1.5). In the case of processed rye grain, fraction A of CP was lowest for GG4.0, intermediate for CG, and highest for GG1.5, whereas for processed maize grain, fraction A increased from CG to GG4.0 to GG1.5 (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P<0.001$). Effective rumen degradability of CP for whole grain was 15.9% and 6.9% for rye and maize grain, respectively.

Table 4. Effect of processing on effective rumen degradability (ERD), degradability constants (A, B, C), intestinal digestibility (ID) and total tract digestibility (TTD) of crude protein of hybrid rye and maize grain

Item	Grain fragmentation ¹	A (%)	B (%)	C (%/h)	ERD (%)	ID (%)	TTD (%)	
Cereal grain	Rye WG	6.0 e	90.8 ab	1.0 c	15.9 g	49.6 e	53.9 e	
	CG	31.7 b	61.0 d	2.2 a	78.6 b	66.4 b	95.1 a	
	GG4.0	27.4 bc	65.9 cd	13.1 b	74.0 c	64.7 c	93.9 b	
	GG1.5	55.0 a	41.0 e	14.4 b	83.8 a	62.1 c	95.7 a	
	Maize WG	WG	2.4 e	43.6 e	0.2 c	6.9 h	2.0 f	9.7 f
		CG	2.2 e	97.2 a	1.3 c	25.4 f	56.8 d	60.2 d
		GG4.0	16.3 d	80.6 abc	3.0 c	43.5 e	57.4 d	78.6 c
		GG1.5	21.4 cd	78.1 bcd	3.1 c	51.6 d	91.3 a	95.9 a
Effect (P-value)	Grain (G)	0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	
	Fragmentation (F)	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
	G \times F ²	<0.001	0.001	0.001	<0.001	0.009	0.007	
SEM		1.68	3.50	0.69	0.42	2.43	2.54	

^{a, b, c} Means within a column with different superscripts are significantly different ($P\leq 0.01$).

¹WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – grain ground to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – grain ground to pass through 1.5 mm sieve.

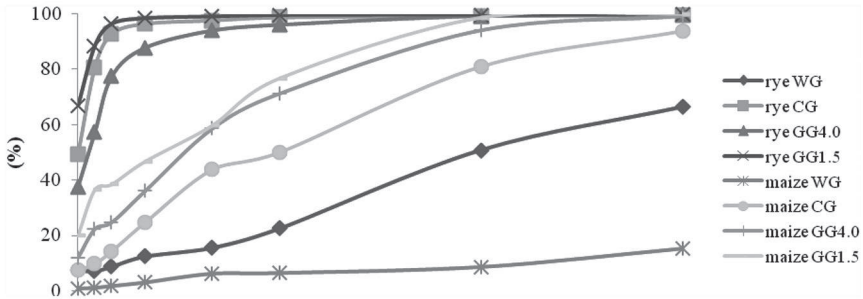
²Interaction between cereal grain and grain fragmentation.

Irrespective of grain processing, ID of CP for rye grain did not exceed 67%, whereas it increased to 91.3% for GG1.5 maize (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P=0.009$; Table 4). TTD of CP for processed rye grain was close to or higher than 95%, whereas such a high TTD of CP was found only for GG1.5 maize (cereal grain \times grain fragmentation interaction, $P=0.007$).

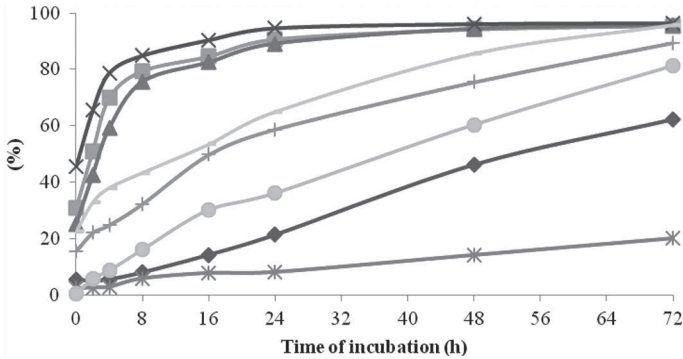
Irrespective of grain type, GP24 was the lowest and even negative for WG (Table 5, Figure 2). On the other hand, GP24 was higher for CG rye compared with CG maize as well as higher for GG1.5 rye compared with GG1.5 maize, indicating higher GP24 for processed rye grain (cereal grain \times grain fragmentation interaction,

P<0.001). Since OMD was calculated based on GP24, similar differences between treatments were observed for this parameter. Irrespective of grain fragmentation, rye grain had higher OMD than maize grain. A significant cereal grain × grain fragmentation interaction (P=0.001) confirmed different effects of grain fragmentation on OMD within each cereal.

A



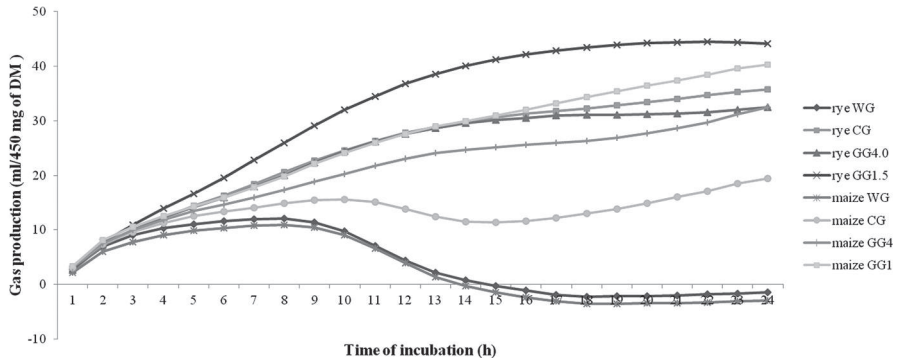
B



WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – ground grain to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – ground grain to pass through 1.5 mm sieve.

Figure 1. *In situ* starch (A) and CP (B) degradability in the rumen of hybrid rye and maize depending on grain processing

Irrespective of grain type, IVTD considerably increased from WG to GG1.5 (grain fragmentation, P<0.001; Table 5). However, IVTD for WG rye was higher than for WG maize (23.0% vs 2.6%, respectively), whereas GG4.0 and GG1.5 maize had higher IVTD than rye grain processed in the same way. Furthermore, IVTD for CG rye was higher than for GG4.0 rye (cereal grain × grain fragmentation interaction, P<0.001).



WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – ground grain to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – ground grain to pass through 1.5 mm sieve.

Figure 2. Cumulative gas production of hybrid rye and maize depending on grain processing

Table 5. *In vitro* gas production (GP24), organic matter digestibility (OMD) estimated by the gas production technique during 24 hour incubation, and *in vitro* true digestibility (IVTD) of hybrid rye and maize grain

Item	Grain fragmentation ¹	GP24 (ml)	OMD (%)	IVTD (%)	
Cereal grain	Rye	WG	-1.42 e	18.8 e	23.0 d
		CG	35.97 c	52.0 c	90.7 b
		GG4.0	32.67 c	49.1 c	88.9 b
		GG1.5	44.14 a	59.3 a	91.7 a
	Maize	WG	-2.83 e	16.7 e	2.6 e
		CG	19.79 d	36.8 d	83.0 c
		GG4.0	32.98 c	48.6 c	93.6 a
		GG1.5	40.68 b	55.4 b	93.4 a
Effect (p-value)	Grain (G)	<0.001	<0.001	<0.001	
	Fragmentation (F)	<0.001	<0.001	<0.001	
	G × F ²	<0.001	0.001	<0.001	
SEM		3.59	3.20	4.29	

^{a, b, c} Means within a column with different superscripts are significantly different (P≤0.01).

¹WG – whole grain; CG – crushed grain; GG4.0 – grain ground to pass through 4.0 mm sieve; GG1.5 – grain ground to pass through 1.5 mm sieve.

²Interaction between cereal grain and grain fragmentation.

Discussion

The main aim of mechanical processing of cereal grains for ruminants is to break the pericarp on the outside of the kernel in order to increase microbial access to starch and thereby enhance ruminal starch digestibility. However, depending on the

physical properties of cereal grain (e.g. pericarp thickness) and fermentation characteristics of starch, optimal fragmentation of the kernel may differ depending on the cereal grain. Furthermore, significant differences in the rate and extent of starch degradation in the rumen have been observed between different varieties of the same crop plant (Philippeau and Michalet-Doreau, 1998; Micek, 2008). Given that each year new varieties of crop plants are available on the market (e.g. hybrid varieties of rye), there is a continuous demand for digestibility trials evaluating the nutritive value of these 'new' feeds.

In the present study, processed hybrid rye grain was generally rapidly degraded in the rumen, and this degradability was only marginally affected by the method of kernel fragmentation. Rapid degradation of rye grain in the rumen, in particular rye starch, has been shown in other studies (Micek, 2008; Krieg et al., 2017). On the other hand, maize starch is degraded in the rumen to a lesser extent, resulting in a greater amount of starch bypassing the rumen (Philippeau et al., 1999; Rémond et al., 2004; Svihus et al., 2005). According to McAllister et al. (1993), the protein matrix and structural carbohydrates present in the kernel largely determine ruminal starch digestibility. For example, the content of some proteins (e.g. albumins, globulins, and prolamins) and their distribution in the endosperm differ between different cereal grains (Nikokyris and Kandyliis, 1997). This in turn affects the susceptibility of protein to microbial fermentation (Seifried et al., 2016), resulting in differences in the ruminal digestibility of starch (Svihus et al., 2005; Krieg et al., 2017). Furthermore, based on the results of an *in vitro* study, Crowe et al. (2000) argue that the interaction between amylose and fatty acids present within the kernel may be an important factor, reducing the rate of enzymatic digestion of starch. Fat content is higher in maize grain than in rye grain (in the present study 54.6 vs 16.1 g/kg DM for maize and rye grain, respectively). This may explain the greater impact of the physical processing of maize grain on its ruminal digestion, due to the more intensive processing needed to destroy chemical bonds between nutrients and ensure that ruminal microbes have access to these nutrients. It is also worth noting that T-NSP and soluble sugars found in rye grain, such as glucose, fructose, sucrose or fructans, may contribute to the high ruminal fermentability of rye grain. Rye contains significant levels of phenolic compounds and water-soluble polysaccharides, especially arabinoxylans. Moreover, the content of fructans in rye grain is four to ten times higher than in wheat grain (Andersson et al., 2014). The presence of these carbohydrates in rye grain and their impact on the ruminal digestibility of rye grain requires detailed studies.

As mentioned above, processing is necessary to break the pericarp of the kernel in order to improve grain digestibility. However, rapid ruminal fermentation of starch may lead to digestive upsets in ruminants (Plaizier et al., 2009). Substantial reduction of kernel particle size due to grinding increases the rate and extent of grain fermentation in the rumen (Bertipaglia et al., 2010), which is not necessarily desired when cereal grains that are highly fermentable in the rumen are used as feed. Therefore, crushing of cereal grain may be a better method of fragmentation of rye kernels. In the present study, however, ERD of DM and starch for CG rye was even higher than for GG4.0 rye, confirming that the intensive ruminal fermentation of rye starch is independent of the intensity of kernel processing. The higher ERD of DM

and starch for CG rye than GG4.0 rye is difficult to explain, but could simply be due to more effective breaking of the pericarp of rye grain by crushing than by passing through a 4.0 mm sieve. Given the diameter of rye grain ($\approx 3\text{--}4$ mm), some kernels could pass through a 4.0 mm sieve intact (Figure 3). However, based on the results of the present study, moderate fragmentation of rye grain (e.g. by passing through a 4.0 mm sieve) could be recommended for practical use. Compared to crushing, this mechanical processing method may at least partially reduce the rate and extent of rye grain digestibility in the rumen, without compromising intestinal digestibility. As the TTD of maize grain starch was highest when grain was ground to pass through a 4.0 mm sieve, moderate fragmentation of maize grain can be also recommended.

In line with the results of the present study, Philippeau et al. (1999) showed that ruminal degradation of starch was lower for crushed than for ground maize grain. Furthermore, similarly to the results of the present study, higher ERD was accompanied by higher content of fraction A and a higher starch degradation rate (constant C). Also, Knowlton et al. (1998) demonstrated that ground maize grain had a higher rate of *in vitro* starch digestion than crushed grain. On the other hand, when different methods of processing were applied to maize grain, a decrease in ruminal starch digestibility was associated with a decrease in small intestinal starch digestibility in cattle (Rémond et al., 2004). In general, our study showed that post-ruminal digestion of maize starch increased with the processing intensity of the grain, as opposed to the negligible effect of processing intensity on the post-ruminal digestibility of rye grain. Since enzymatic digestion of starch escaping the rumen and entering the small intestine is energetically more efficient for ruminants than utilization of ruminal short-chain fatty acids (Offner and Sauvant, 2004), the site of starch digestion along the gastrointestinal tract may have a substantial effect on dairy or beef cattle performance. As a result, the effect of maize grain processing on post-ruminal digestion should be taken into account when formulating diets for ruminants, whereas such an impact on post-ruminal rye grain digestibility is much less evident.

It is worth noting that rapid degradation of rye grain in the rumen is also a result of its rapid CP degradation. According to McAllister et al. (1993) and Krieg et al. (2017), interactions of the protein matrix with starch granules and variation in the properties of cereal grain proteins could contribute to differences in starch degradation kinetics. In the present study, the kinetics of *in situ* CP degradation did in fact show a similar trend to that observed for the kinetics of starch degradation. Furthermore, the correlation between ERD of starch and ERD of CP was high ($r = 0.995$), supporting the widely suggested (Svihus et al., 2005; Krieg et al., 2017) impact of solubility and susceptibility of protein to ruminal fermentation on ERD of starch.

The *in situ* nylon bag technique is commonly used to characterize the degradation and kinetics of degradation of feeds (their components) in the rumen. However, in this technique, small particles of grain (starch granules) may escape from the bag without being degraded by ruminal microbes. The data provided by Offner and Sauvant (2004) suggest that the *in situ* technique underestimates ruminal starch degradability for slowly degradable starch sources, such as maize, and overestimates it for rapidly degradable starch sources such as rye. Therefore, ideally several methods should be applied to fully characterize the nutritive value of cereal grains for rumi-

nants. In the present study, a high correlation was observed between *in situ* ERD of DM and *in vitro* GP24 or OMD ($r = 0.92$ and $r = 0.93$, respectively), suggesting that *in vitro* techniques could be used to provide a simulation of the *in situ* situation with almost equal effectiveness. In general, the results obtained by the *in situ* and *in vitro* GP technique were comparable, with both confirming very rapid rumen degradation of DM and starch for rye grain, while the method of kernel fragmentation had only a minor impact on this process. However, a negative gas production value after 8 h of incubation was shown for WG. A similar ‘problem’ has been reported by Araujo et al. (2011). According to our best hypothesis, the easily degradable fraction of organic matter contained in jars with WG was probably entirely used up by the microbial population during the first 8 h of incubation. Then, in the next 16 h, the amount of gas produced gradually decreased, even below the values observed for blanks. This means that after 14 h of incubation, the gas production in samples containing WG of rye or corn were lower than in blank samples containing only buffered rumen fluid. This biologically inappropriate effect is not clear and difficult to explain but we hypothesize that the reduction in gas production in WG jars may suggest that the addition of untreated grains significantly affects fermentation of organic matter, not only derived from substrate, but also from the inoculum.

Compared to the *in situ* and GP method, the IVTD technique is an easier and less time-consuming method of predicting DM digestibility in the rumen. However, IVTD seems to be the less useful method for differentiating the impact of grain processing on its digestibility in the rumen. Its use is limited to feeds that do not contain a high level of small indigestible derivatives that might escape from the bag during incubation (Mabjeesh et al., 2000). Grains become floury when ground. Therefore, sample processing, particularly grinding intensity, interacts with the pore size of the bag and affects the extent of feed disappearance. As a result, the differences between processed grains can largely be explained by differences in the final particle size of the sample, which is also the case for the *in situ* method. However, the latter method measures the disappearance of feed nutrients in time, which in turn affects degradability. Thus, the time criterion is more relevant for the *in situ* method, where so-called washing losses from bags are considered a ‘0’ incubation time and the inclusion of different incubation times allows for measuring the rate of digestion. The 24 h incubation time used in the present study for IVTD seems to be sufficient for comparing the digestion of cereal grains, but the final results are still associated with error due to the potential escape of undigested material from the bag. On the other hand, the use of a 48 h incubation time instead of 24 h would probably result in complete digestion of samples of processed grains.

In conclusion, the greater degree of rye and maize grain fragmentation, the higher effective rumen degradability and intestinal digestibility of starch. However, rye starch and crude protein are more susceptible to fermentation in the rumen than maize, and way of grain processing may alter the site and extent of its digestion along the gastrointestinal tract. In this context, grain fragmentation may affect rumen degradability and post-ruminal digestion to a much greater extent for maize grain than rye grain.

Acknowledgements

The authors acknowledge the staff of the National Research Institute of Animal Production (Balice, Poland) for their help in conducting the study on fistulated cows and collecting the data.

References

- AACC (2011). International approved methods of analysis. 11th ed. St. Paul, MN, USA.
- Andersson A.A.M., Dimberg L., Åman P., Landberg R. (2014). Recent findings on certain bioactive components in whole grain wheat and rye. *J. Cereal Sci.*, 59: 294–311.
- AOAC (2005). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18th ed. AOAC International, Washington, DC.
- Araujo R.C., Piresa A.V., Mourão G.B., Abdalla B.A.L., Sallam S.M.A. (2011). Use of blanks to determine *in vitro* net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 166–167: 155–162.
- Benninghoff J., Paschke-Beese M., Südekum K.H. (2015). *In situ* and *in vitro* ruminal degradation of maize grain and untreated or xylose-treated wheat, barley and rye grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 210: 86–93.
- Bertipaglia L.M.A., Fondevila M., van Laar H., Castrillo C. (2010). Effect of pelleting and pellet size of a concentrate for intensively reared beef cattle on *in vitro* fermentation by two different approaches. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 159: 88–95.
- Crowe T.C., Seligman S.A., Copeland L. (2000). Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids *in vitro* contributes to resistant starch formation. *J. Nutr.*, 130: 2006–2008.
- Englyst H.N., Cummings J.H. (1984). Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109: 937–942.
- Faisant N., Planchot V., Kozłowski F., Pacouret M.P., Colonna P., Champ M. (1995). Resistant starch of determination adapted to products containing high level of resistant starch. *Sci. Alim.*, 15: 83–89.
- Goering H.K., Van Soest P.J. (1970). Forage fibre analysis. In: *Agricultural Handbook No. 379*. Agricultural Research service, USDA, Washington, DC, 20 pp.
- Grajewski J., Błajet-Kosicka A., Twarużek M., Kosicki R. (2012). Occurrence of mycotoxins in Polish animal feed in years 2006–2009. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 95: 870–877.
- Hoseney R.C. (1994). Principles of cereal science and technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA.
- Knowlton K.F., Glenn B.P., Erdman R.A. (1998). Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. *J. Dairy Sci.*, 81: 1972–1984.
- Kowalski Z.M., Pisulewski P.M.P., Peyraud J-L., Kamiński J. (1995). The effect of drier outflow temperature on rumen protein degradability and intestinal digestibility of rumen-undegraded protein of dehydrated grass and lucerne. *Ann. Zootech.*, 44 (suppl.1): 88.
- Krieg J., Seifried N., Steingass H., Rodehutschord M. (2017). *In situ* and *in vitro* ruminal starch degradation of grains from different rye, triticale and barley genotypes. *Animal*, 11: 1745–1753.
- Mabjeesh S.J., Cohen M., Arieli A. (2000). *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: Comparison of methods and inoculum source. *J. Dairy Sci.*, 83: 2289–2294.
- McAllister T.A., Phillippe C., Rode L.M., Cheng K.J. (1993). Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, 71: 205–212.
- Menke H.H., Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.*, 28: 7–55.
- Mertens D.R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative Study. *J. AOAC Int.*, 85: 1217–1240.

- Micek P. (2008). Nutritional usefulness to ruminants of grain of Polish cereal species and cultivars (in Polish). Scientific papers of University of Agriculture in Krakow. Habilitation thesis, 326: 1–127.
- Mills J.A.N., France J., Dijkstra J. (1999). A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model. 2. Postruminal starch digestion and small intestinal glucose absorption. *J. Anim. Feed Sci.*, 8: 451–481.
- Nikokyris P.N., Kandyliis K. (1997). Feed protein fractions in various solvents of ruminant feedstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 75: 198–204.
- NRC (2001). National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed., National Academy Press, Washington, DC.
- Offner A., Sauvant D. (2004). Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 111: 41–56.
- Owens F.N., Zinn R.A., Kim Y.K. (1986). Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.*, 63: 1634–1648.
- Ørskov E.R. (1986). Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 63: 1624–1633.
- Ørskov E.R., McDonald P. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.*, 92: 499–503.
- Petr J. (2005). Yield potential of rye, hybrid and population varieties in ecological and intensive cultivation. *Sci. Agric. Bohem.*, 36: 41–48.
- Peyraud J.L., Genest-Rulquin Ch., Verité R. (1988). Mesure de la digestion de l'azote des aliments dans l'intestin des ruminants par la technique des sachets mobiles. 1. Evaluation de la quantité de matières azotées indigestibles en sachet des principaux aliments. *Reprod. Nutr. Dev.*, 28: 129–130.
- Philippeau C., Michalet-Doreau B. (1998). Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 81: 2178–2184.
- Philippeau C., Le Deschault de Monredon F., Michalet-Doreau B. (1999). Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. *J. Anim. Sci.*, 77: 238–243.
- Plaizier J.C., Krause D.O., Gozho G.N., McBride B.W. (2009). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.*, 176: 21–31.
- Rémond D., Cabrera-Estrada J.L., Champion M., Chauveau B., Coudure R., Poncelet C. (2004). Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87: 1389–1399.
- Robertson J.B., Van Soest P.J. (1981). The detergent system analysis and its application to human foods. In: The analysis of dietary fiber in food, J. Theander (ed.). Dekker INC, pp. 123–157.
- Rowe J.B., Choct M., Pethick D.W. (1999). Processing cereal grains for animal feeding. *Aust. J. Agric. Res.*, 50: 721–736.
- Sauvant D. (1997). Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, 10: 287–300.
- Seifried N., Steingass H., Schipprack W., Rodehutschord M. (2016). Variation in ruminal *in situ* degradation of crude protein and starch from maize grains compared to *in vitro* gas production kinetics and physical and chemical characteristics. *Arch. Anim. Nutr.*, 70: 333–349.
- Svihus B., Uhlen A.K., Harstad O.M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 122: 303–320.
- Tagliapietra F., Cattani M., Hansen H., Hindrichsen I., Bailoni L., Schiavon S. (2011). Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h *in situ* NDF digestibility and on *in vitro* 24 h gas production methods. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 170: 182–191.
- Tothi R., Lund P., Weisbjerg M.R., Hvelplund T. (2003). Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evacuation and *in situ* techniques. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 104: 71–94.
- Wang M., Jiang J., Tan Z.L., Tang S.X., Sun Z.H., Han X.F. (2009). *In situ* ruminal crude protein and starch degradation of three classes of feedstuffs in goats. *J. Appl. Anim. Res.*, 36: 23–28.

Woods V.B., Moloney A.P., O'Mara F.P.O. (2003). The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals: Part II: *In situ* ruminal degradability of crude protein. Anim. Feed Sci. Tech., 110: 131–143.

Received: 17 VII 2019

Accepted: 18 II 2020



EFFECT OF RYE GRAIN DERIVED FROM DIFFERENT CULTIVARS OR MAIZE GRAIN USE IN THE DIET ON RUMINAL FERMENTATION PARAMETERS AND NUTRIENT DIGESTIBILITY IN SHEEP*

Patrycja Rajtar¹, Paweł Górka¹, Bogdan Śliwiński², Jarosław Wieczorek³, Danuta Boros⁴, Piotr Micek^{1*}

¹Department of Animal Nutrition and Biotechnology, and Fisheries,
University of Agriculture in Krakow, Kraków, Poland

²Department of Animal Nutrition and Feed Science, National Research Institute of Animal Production,
32-083 Balice n. Kraków, Poland

³Institute of Veterinary Sciences, University Centre of Veterinary Medicine UJ-UR, Kraków, Poland

⁴Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute in Radzików,
05-870 Blonie, Poland

*Corresponding author: piotr.micek@urk.edu.pl

Abstract

Six wether sheep with ruminal and duodenal cannulas were used in a replicated 3 × 3 Latin square to determine the effect of rye grain (from an open-pollinated or a hybrid cultivar) and maize grain from hybrid cultivar inclusion in the diet on ruminal fermentation parameters and nutrient digestion in different gastrointestinal tract compartments. The experimental diets consisted of meadow hay (800 g/day) and a concentrate mixture (300 g/day) that contained rye grain from an open-pollinated cultivar (OPRG), rye grain from a hybrid cultivar (HRG), or maize grain from a hybrid cultivar (MG) as a main energy source. Each experimental period lasted 17 days and consisted of 10 days for diet adaptation and 7 days for data and sample collection. Ruminal fermentation (pH, short-chain fatty acids, and ammonia concentration) and nutrient digestion up to the duodenum (in reticulorumen, omasum, and abomasum), in the intestine, as well as in the total digestive tract was investigated. Mean ruminal pH was higher for MG compared to HRG and OPRG ($P < 0.01$) but did not differ between HRG and OPRG (6.45, 6.35, and 6.29 for MG, HRG, and OPRG, respectively). Treatment did not affect short-chain fatty acid concentration in the rumen, except for the molar proportions of valeric acid and of isovaleric acid of the total short-chain fatty acids, which was or tended to be higher ($P \leq 0.06$) for MG compared to HRG and OPRG. Less starch was digested in the gastrointestinal tract up to the duodenum and more in the intestine for MG compared to HRG and OPRG ($P = 0.01$); however, total tract nutrient digestibility did not differ between treatments. In conclusion, usage of rye grain in sheep diets resulted in a lower ruminal pH compared to maize grain usage. No differences for ruminal fermentation, nutrient digestion up to the duodenum, in the intestine, as well as in the total digestive tract between rye grain from open-pollinated and hybrid cultivar usage in sheep diets were found.

Key words: cereal grain, cultivar, digestion, ruminants

*The project was supported by funds from the National Centre for Research and Development (NCRD), grant ENERGYFEED, project No. BIOSTRATEG2/297910/12/NCBR/2016.

Rye grain (*Secale cereale* L.) is not commonly used in diets for ruminants (Heuzé et al., 2015), mostly because of concerns about ergot alkaloid contamination (Warren et al., 1963) but also because of the potentially lower palatability of rye grain compared to other cereal grains (Sharma et al., 1981). However, cultivars of hybrid rye which offer several agronomic benefits over older, open-pollinated cultivars have been developed relatively recently. Those benefits include greater yield as well as greater drought, pest, and frost resistance (Geiger and Miedaner, 2009; Jürgens et al., 2012; Katina et al., 2014). Those rye hybrids have also reduced susceptibility to ergot contamination and reduced concentrations of antinutritional factors commonly present in rye grain, including trypsin inhibitors and alkylresorcinols (Makarska et al., 2007; Miedaner and Geiger, 2015). Thus, the use of rye grain from hybrid cultivars in ruminant nutrition may yield satisfying results. In support of this, a few studies conducted to date have shown that feeding hybrid rye grain to early-lactating dairy cows had no negative effect on dry matter intake and milk yield (Pieszka et al., 2015). Furthermore, hybrid rye grain usage yielded satisfying results also in diets for monogastrics. Specifically, the proportion of hybrid rye grain may be substantially increased in diets for pigs and poultry (e.g., up to 25% in compound feed) without the risk of reduced animal performance (Schwarz et al., 2015; Smit et al., 2019; Arczewska-Włosek et al., 2019; Bederska-Łojewska et al., 2019; Węsierska et al., 2019).

The starch of rye grain is rapidly fermented in the rumen, which may limit its use in the diets for ruminants (Benninghoff et al., 2015; Krieg et al., 2017; Rajtar et al., 2020). The same applies to other cereal grains, such as wheat, barley, or triticale, contributing to the high popularity of maize as a main source of energy in diets for ruminants (McGrath et al., 2018; Loy and Lundy, 2019). However, Silveira et al. (2007), Zhao et al. (2016), and Krieg et al. (2017) reported a huge variation in the ruminal degradation of rye grain and barley grain derived from different cultivars. Moreover, Silveira et al. (2007) found differences in ruminal pH, ruminal propionate and acetate concentrations, and total tract digestibility in dairy cows fed diets with two different barley cultivars. Variations in ruminal degradation have also been shown for different wheat genotypes (Seifried et al., 2016). Furthermore, in pigs, differences in intestinal digestibility of amino acids were shown when rye grain derived from various genotypes was compared (Strang et al., 2016). Thus, due to possible differences in the concentrations of some nutrients (e.g., carbohydrates, amino acids) and antinutritional factors between open-pollinated and hybrid rye grain (Strang et al., 2016; Makarska et al., 2007; Miedaner and Geiger, 2015), differences in their digestibility can also be expected in ruminants. However, *in vivo* studies documenting the potential differences in ruminal fermentation as well as post-ruminal digestibility of different genotypes of rye grain are lacking.

The hypothesis of this study was that ruminal fermentation and nutrient digestibility of rye grain from hybrid and open-pollinated cultivars differ. To hasten this hypothesis verification, animals were also fed a diet with maize grain, the most popular source of energy in diets for ruminants. The aim of this study was to determine the impact of hybrid rye grain, open-pollinated rye grain, and maize grain usage in the diets for ruminants on ruminal fermentation parameters (pH, short-chain fatty acids,

and ammonia concentration in rumen fluid) and nutrient digestibility. In this study, sheep were used as model animals.

Material and methods

Animals, experimental design, and treatments

The study was conducted between December 2015 and January 2016. Prior to the study, the experimental procedures were reviewed and approved by the Local Institutional Animal Care and Use Committee (Kraków, Poland; protocol No. 224/2015). Six Polish Longwool Sheep wethers (40.7 ± 4.67 kg body weight, at 18 to 20 months of age) fitted with permanent ruminal cannula (soft plastic, 75-mm opening diameter; Bar Diamond Inc., Parma, ID) and self-made duodenal T-type cannula (high-density polyethylene, oval barrel with an opening of 158 mm²) were used in a 3×3 replicated Latin square design. Each experimental period lasted 17 days and included 10 days of adaptation and 7 days for data and sample collection. The wethers were kept in individual pens (160 × 90 cm) bedded with small amounts of wood shavings that were added daily. Prior to the study, the wethers were stratified by body weight and then allocated to the replicate (i.e., to obtain one replicate with higher and one replicate with lower initial body weight of animals).

The animals were fed a diet consisting of 800 g of chopped (≈ 5 cm) meadow hay/day and 300 g of a mixture of concentrates/day with rye grain from a hybrid cultivar (HRG; cultivar Bono; KWS Lochow, Prusy, Poland), rye grain from an open-pollinated cultivar (OPRG; cultivar Dańkowskie Opal; KWS Lochow, Prusy, Poland), or maize grain from a hybrid cultivar (MG; cultivar Podium; KWS Lochow, Prusy, Poland) used as a main source of energy, resulting in three experimental treatments (Table 1). Thus, feed intake was restricted in the current study. Cereal grains were harvested in 2015, and thus, grains for the study originated from the same year. Besides rye (open-pollinated or hybrid) or maize, the mixture of concentrates contained soybean meal, salt, and vitamin-mineral supplement (Table 2). Cereal grains and soybean meal were ground to pass through a 4-mm screen, and subsequently, vitamin-mineral supplement and salt were added and mixed to obtain a homogeneous mixture. The diets were formulated to be isonitrogenous, and the treatments HRG and OPRG were similar for starch and non-fibrous carbohydrates (NFC). The diets met the nutrient requirements of sheep (INRA, 2007).

The diet was divided into two equal meals and fed at 06:00 and 18:00. Prior to feeding, hay and the mixture of concentrates were individually weighed for each animal into the feeder and mixed carefully. The animals had *ad libitum* access to water.

Duodenal flow, digestibility, and rumen fermentation

Sampling of digesta and feces and calculation of nutrient digestibility followed the procedures described previously by Górká et al. (2017), with minor modification. In brief, digesta flow to the duodenum was determined using the single marker method and YbCl₃ (modified from Siddons et al., 1985) as the digesta marker. The

marker solutions were prepared (separately for each period of the study) using double-distilled water and infused directly into the rumen from day 11 to day 17 of each experimental period, using a peristaltic pump (Minipuls Evolution; Gilson) at a constant rate of 200 mL/day; 155 mg of Yb were infused into the rumen daily (van Rysse and Mavimbela, 1999). Samples of the marker solutions (20 mL) were collected and stored frozen (-20°C) for further marker concentration analysis.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets

Item	Treatment ¹		
	MG	HRG	OPRG
Concentrate mixture (g/kg)			
maize grain	831		
hybrid rye grain		851	
open-pollinated rye grain			805
soybean meal	137	117	163
mineral-vitamin supplement ²	30	30	30
salt	2	2	2
Diet (g/day)			
maize grain	249.3		
hybrid rye grain		255.3	
open-pollinated rye grain			241.5
soybean meal	41.1	35.1	48.9
mineral-vitamin supplement ²	9.0	9.0	9.0
salt	0.6	0.6	0.6
meadow hay ³	800	800	800
Chemical composition of diets			
Dry Matter (DM) (%)	82.07 ± 0.05	81.87 ± 0.10	81.86 ± 0.09
ash (% DM)	7.30 ± 0.04	7.44 ± 0.04	7.40 ± 0.04
crude protein (% DM)	9.60 ± 0.08	9.38 ± 0.10	9.46 ± 0.06
crude fat (% DM)	2.19 ± 0.03	1.50 ± 0.01	1.46 ± 0.00
NDF ⁴ (% DM)	47.31 ± 0.06	49.58 ± 0.06	49.44 ± 0.05
ADF ⁵ (% DM)	29.06 ± 0.01	29.18 ± 0.01	29.00 ± 0.01
starch (% DM)	14.95 ± 0.46	12.73 ± 0.25	13.11 ± 0.19
NFC ⁶ (% DM)	33.60 ± 0.08	32.10 ± 0.01	32.24 ± 0.05

¹Treatment: MG = maize grain as a main source of energy in concentrate mixture, HRG = hybrid rye grain as a main source of energy in concentrate mixture, OPRG = open-pollinated rye grain as a main source of energy in concentrate mixture.

²Polfamix KO (as fed): 200 g Ca, 60 g Na, 120 g P, 65 g Mg, 300,000 IU vitamin A, 30,000 IU vitamin D, 1,500 mg vitamin E, 3,000 mg Mg, 2,500 mg Zn, 50 mg I, 3 mg Se, 15 mg Co.

³Chemical composition: 87.41% DM, 8.68% ash, 7.54% CP, 1.65% crude fat, 64.41% NDF, 40.01% ADF.

⁴Neutral detergent fiber.

⁵Acid detergent fiber.

⁶Non-fibrous carbohydrates = 100 – (NDF + crude protein + crude fat + ash).

Table 2. Chemical composition and carbohydrate structure of maize grain, hybrid rye grain, and open-pollinated rye grain (g/kg DM)

Item	Maize grain	Hybrid rye grain	Open-pollinated rye grain
Crude protein	117.5	127.5	106.3
Crude fat	42.1	13.7	24.3
Ash	14.4	17.1	16.5
Starch	780.8	652.5	704.2
NDF ¹	85.0	165.7	131.1
ADF ²	30.7	45.0	42.2
ADL ³	18.4	10.6	12.3
NFC ⁴	741.0	676.0	721.8
T-NSP ⁵	48.7	131.8	130.6
WIS-NSP ⁶	19.0	51.1	48.8
WS-NSP ⁷	1.70	23.5	26.1
TDF ⁸	61.8	161.8	158.2
Arabinose	6.50	19.3	19.0
Xylose	7.30	30.4	30.9
Mannose	3.00	4.40	4.40
Galactose	1.70	2.30	2.20
Glucose	13.7	31.0	30.2

¹Neutral detergent fiber.

²Acid detergent fiber.

³Acid detergent lignin.

⁴Non-fibrous carbohydrates = 1000 – (NDF + crude protein + crude fat + ash).

⁵Total content of non-starch polysaccharides.

⁶Water-insoluble non-starch polysaccharides.

⁷Water-soluble non-starch polysaccharides.

⁸Total dietary fiber.

Apparent total tract digestibility was determined by total fecal collection from day 11 to day 14 of each experimental period. The feces were collected into canvas collection bags strapped to the hindquarters of the wethers, as proposed by Pfister (1985) with minor modifications. The bags were emptied twice a day (07:30 and 17:30 h), and 15% of daily fecal output was collected, pooled by animals and period, and stored at -20°C for further analysis. From day 15 to day 17 of each period, 12 samples of duodenal digesta were collected at 06:00, 12:00, 18:00, and 00:00 h on day 15; 04:00, 10:00, 16:00, and 22:00 h on day 16; and 02:00, 08:00, 14:00, and 20:00 h on day 17 to reflect 24-h feeding cycle (Chibisa et al., 2012; Górká et al., 2017). At each sampling time, 150–200 mL of whole duodenal digesta were collected and kept at -20°C for further processing.

Immediately after duodenal digesta sampling, a probe (rubber tube covered with thin metal net) was inserted into the rumen via a rumen cannula, and 100 mL of rumen fluid were aspirated from the ventral sack of the rumen. Subsequently, 5 mL of rumen fluid were mixed with 1 mL of metaphosphoric acid (25% wt/vol) and 4 mL of rumen fluid with 0.2 mL of saturated HgCl_2 solution. The rumen fluid samples were pooled by wethers and period to obtain one sample, which was used for

analysis of short-chain fatty acids (SCFA) and N-NH_3 concentration. Furthermore, from day 11 to day 13 of each experimental period, the rumen pH in the ventral sack of the rumen was measured every 1 min using a small ruminant pH measurement system (Dascor, Escodido, CA), as described and validated by Penner et al. (2009).

Feed samples were collected weekly and pooled by period before analysis. If they occurred, refusals were also collected and stored frozen (-20°C) until analysis. Furthermore, samples of hybrid rye grain, open-pollinated rye grain, and maize grain (whole grains) were collected at the stage of concentrate mixture preparation and stored at room temperature for further analysis.

Sample analysis

Samples of the whole duodenal digesta were freeze-dried. Fecal samples (after thawing), feeds (mixture of concentrates, hay, and samples of cereal grains), and refusals (after thawing) were dried in a forced air oven at 55°C for 72 h. Subsequently, the samples were ground to pass through a 1-mm screen and analyzed for dry matter (DM), ash, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF), as described previously by Górká et al. (2017). Starch content was analyzed as described by Faisant et al. (1995). Acid detergent lignin (ADL) was analyzed as described by Robertson and Van Soest (1981). Based on the chemical composition of the mixture of concentrates and hay, the diet composition was mathematically estimated, including NSC concentration.

Concentrations of total non-starch polysaccharides (T-NSP), water-soluble polysaccharides (WS-NSP), and water-insoluble polysaccharides (WIS-NSP) in cereal grains were determined by gas chromatography (Englyst and Cummings, 1984). In this procedure, the non-starch polysaccharides of each fraction represent the sum of individual monomers, including arabinose, xylose, mannose, galactose, and glucose. Briefly, after enzymatic hydrolysis of starch, the samples were centrifuged and split into soluble (ethanol precipitates from supernatant) and insoluble (remaining pellet) fractions. Each fraction was hydrolyzed with 1M sulfuric acid (100°C , 2 h) to obtain monosaccharides and converted to volatile alditol acetates. The alditol acetates were separated on a capillary quartz column Rtx-225 ($0.53\text{ mm} \times 30\text{ m}$) using a Clarus 500 gas chromatograph (Perkin Elmer) equipped with an autosampler, splitter injection port, and flame ionization detector. The carrier gas was helium. Separation was performed at 225°C and injection and detection at 275°C . Total dietary fiber (TDF; method no. 32–25; AACC, 2011) was calculated as the sum of T-NSP and lignin content (Theander et al., 1995).

The concentration of Yb in the duodenal digesta, fecal samples, and infusing media was analyzed by ICP-OES using the Perkin Elmer Optima 7300 DV instrument after sample ashing in the mixture of concentrated HNO_3 and HClO_4 (1:1.5; v/v) in the presence of KCl (2 g/L) (PN-EN 1233:2000P).

Ruminal SCFA were determined in a gas chromatograph (3400 CX; Varian Star, Palo Alto, CA) equipped with a flame ionization detector (FID), as described by Erwin et al. (1961), using a DB-FFAP column ($30\text{ m} \times 0.5\text{ mm}$; J&W Scientific, Folsom, CA) and argon as a carrier. The flow rate was set to 4 mL/min, and the

temperatures for the column, injector, and detector were set to 90–205°C, 200°C, and 240°C, respectively. Ammonia-N was determined as described by Conway (1962).

Calculations and statistical analysis

In this paper, the disappearance of nutrients in compartments of the gastrointestinal tract posterior to the duodenum will be also referred to as “digestion in the whole stomach” (reticulorumen, omasum, and abomasum).

Feed intake, nutrient content in feeds, and refusals were used to calculate nutrient intake. Marker concentration in consumed DM (calculated based on DM intake and marker infusion into the rumen) and DM of duodenal digesta was used to calculate duodenal flows. Subsequently, nutrient intake, nutrient flow to the duodenum, and nutrients excreted in the feces were used to calculate apparent nutrient digestibility up to the duodenum (in the whole stomach), the intestine, and the entire digestive tract (Górka et al., 2017). The daily ruminal pH measurements (day 11 to day 13 of each period) were summarized as minimum, mean, and maximum pH, and the standard deviation of daily ruminal pH was also calculated (Penner et al., 2006). For daily ruminal pH pattern analysis, the means for each hour of the day over 3 days of measurement were used.

Data were analyzed as a replicated Latin square design using the MIXED procedure of SAS (ver. 9.2; SAS Inst. Inc., Cary, NC). Before analysis, normal distribution of the data was verified using PROC UNIVARIATE in SAS, and no data transformation was necessary. The model included the fixed effect of treatment and the random effects of period, replicate, and animal within replicate. For measurements repeated in time (daily ruminal pH and daily ruminal pH pattern), a REPEATED statement was included in the statistical model, with the compound symmetry covariance structure chosen on the basis of the lowest Akaike information criteria. Preplanned contrasts were used for scientific hypothesis verification, i.e., to compare the impacts of hybrid and open-pollinated rye grain in the diet on the investigated variables (OPRG vs. HRG) as well as to compare the effects of maize grain feeding with the effects of rye grain feeding (MG vs. OPRG and HRG).

One animal was excluded from statistical analysis due to permanent rumen cannula loss in the last period of the study, resulting in available data only for two periods for this animal. Thus, the presented results correspond to five animals. However, prior to removal of the aforementioned animal from the data set, statistical analysis with and without data collected for this animal was run, and the results, in general, did not change, also when the WEIGHT option in SAS was included in the model to account for the different numbers of observations between treatments.

The results are presented as least square means and their corresponding standard errors. Significance was declared at $P \leq 0.05$, and tendencies were discussed when $P \leq 0.10$.

Results

Compared with maize grain, rye grain (open-pollinated and hybrid) contained more CP, NDF, and ADL, but less ADF, starch, and crude fat (Table 2). Hybrid rye

grain had a slightly lower starch content compared to open-pollinated rye grain. The T-NSP in rye was 2.7 times higher than that in maize, mainly due to a greater proportion of WS-NSP, with 14 to 15 times higher values in rye grain (depending on the cultivar) than in maize grain. Open-pollinated and hybrid rye grain contained 2.6 times more TDF, 2.9 times more arabinose, 2.3 time more glucose, and 4.2 times more xylose compared to maize grain. No substantial differences for T-NSP, WIS-NSP, TDF, arabinose, xylose, mannose, galactose, and glucose concentrations between hybrid rye grain and open-pollinated rye grain were observed.

Table 3. Effects of maize grain, hybrid rye grain, and open-pollinated rye grain use in the diet on dry matter intake and ruminal fermentation in sheep

	Treatment ¹			SEM ²	P-value	Contrast	
	MG	HRG	OPRG			MG vs. HRG and OPRG	HRG vs. OPRG
Dry matter intake (g/d)	968	964	951	5.02	0.35	0.34	0.26
Rumen SCFA ³ (mmol/L)	92.0	89.7	97.1	13.1	0.63	0.84	0.36
Acetic acid (% SCFA)	65.2	66.8	65.6	1.75	0.35	0.33	0.29
Propionic acid (% SCFA)	21.5	21.2	21.7	1.62	0.93	0.95	0.72
Butyric acid (% SCFA)	11.2	10.3	11.0	0.67	0.61	0.48	0.49
Valeric acid (% SCFA)	0.92	0.62	0.65	0.08	0.02	< 0.01	0.76
Isobutyric acid (% SCFA)	0.45	0.38	0.36	0.04	0.26	0.11	0.77
Isovaleric acid (% SCFA)	0.78	0.89	0.92	0.06	0.15	0.06	0.70
N-NH ₃ (mg/dL)	9.67	10.68	9.92	1.23	0.33	0.30	0.28
Rumen pH							
mean	6.45	6.35	6.29	0.11	0.01	< 0.01	0.22
minimum	6.11	5.94	5.86	0.15	0.003	< 0.01	0.27
maximum	6.81	6.84	6.80	0.08	0.67	0.78	0.39
standard deviation	0.14	0.20	0.20	0.02	< 0.01	< 0.01	0.75

¹Treatment: MG = maize grain as main source of energy in concentrate mixture, HRG = hybrid rye grain as a main source of energy in concentrate mixture, OPRG = open-pollinated rye grain as a main source of energy in concentrate mixture.

²Standard error of the mean.

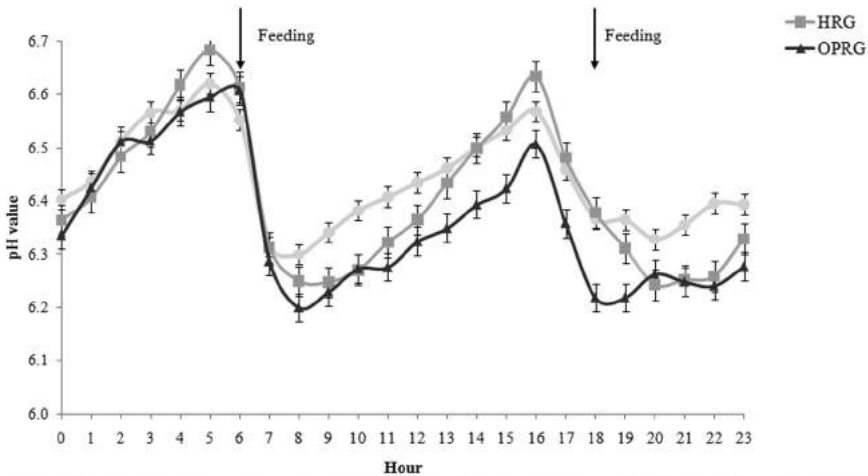
³SCFA = short-chain fatty acids.

All diets had similar ash, CP, and ADF contents (Table 1). Differences were noted for NDF, starch, and fat concentrations. The NDF content was slightly lower for MG compared to HRG and OPRG (47.31, 49.58, and 49.44% of DM for MG, OPRG, and OPRG, respectively). The starch concentration was greater for MG (on average by 15%) compared to HRG and OPRG (14.95, 12.73, and 13.11% of DM), whereas the fat concentration was greater for MG compared to HRG and OPRG (2.19, 1.50, and 1.46% of DM). The chemical composition of diets, as planned, did not differ between HRG and OPRG, with the exception of a slightly greater (by 0.38 percentage unit) starch concentration for OPRG compared to HRG.

All animals consumed the amount of feed that was offered daily, with the exception of one wether, which left some feed during the sampling period. This occurred

independently of the treatment that was applied to this animal in subsequent periods of the study. However, DM intake did not differ between treatments (Table 3).

Treatment did not affect the total SCFA concentration in the rumen fluid (Table 3). The MG treatment resulted in a greater molar proportion of valeric acid ($P<0.01$) and a tendency to a greater molar proportion of isovaleric acid ($P=0.06$) in total SCFA compared to the HRG and OPRG treatments. Furthermore, MG resulted in higher mean and minimum ruminal pH and lower standard deviation of ruminal pH compared to OPRG and HRG ($P<0.01$). No other differences for ruminal fermentation were observed between MG vs. OPRG and HRG. Also, no differences between OPRG and HRG for ruminal fermentation characteristics were detected.



Treatments: MG = maize grain as a main source of energy in concentrate mixture, HRG = hybrid rye grain as a main source of energy in concentrate mixture, OPRG = open-pollinated rye grain as a main source of energy in concentrate mixture.

Figure 1. Average ruminal pH fluctuation over 1 day (average of 3 days)

Changes in ruminal pH during the day showed a typical post-feeding drop and a gradual return to the 'baseline' over the next 12 hours (Figure 1). No interaction between hour of the day and treatment was observed ($P=0.99$). When the data were analyzed using the mean value for each hour of the day over 3 days of measurement, mean ruminal pH was not only higher for MG compared to HRG and OPRG (6.45 vs. 6.35 and 6.28, respectively; $P<0.01$) but also for HRG compared to OPRG (6.35 vs. 6.28; $P<0.01$). This was mostly a result of a lower maximum ruminal pH for the OPRG treatment; however, the difference was relatively minor (0.07 unit).

The treatment led to a higher CP intake for MG compared to HRG and OPRG ($P=0.02$; Table 4); however, the difference was only 3 g/day and reflected minor differences in CP concentration between the experimental diets. Furthermore, starch intake was greater (by 12 to 13%; $P<0.01$) and NDF intake lower (by 3 to 5%; $P=0.04$) for MG compared to HRG and OPRG. No other differences for nutrient intake were observed between MG vs. HRG and OPRG. No differences for nutrient intake were observed between HRG and OPRG.

Table 4. Effects of maize grain, hybrid rye grain, and open-pollinated rye grain use in the diet on nutrient intake and apparent nutrient digestibility in sheep

	Treatment ¹			SEM ²	P-value	Contrast	
	MG	HRG	OPRG			MG vs. HRG and OPRG	HRG vs. OPRG
Organic matter intake (g/d)	884	879	867	4.55	0.31	0.27	0.26
Flow at duodenum (% of intake)	52.2	49.6	51.5	1.11	0.37	0.34	0.30
Digested up to duodenum ^{3,4} (%)	47.8	50.4	48.5	1.11	0.37	0.34	0.30
Digested in intestine							
% of intake	22.0	19.0	23.4	1.91	0.46	0.82	0.25
% of flow to duodenum	40.9	38.1	43.9	3.06	0.53	0.99	0.28
Digested in whole tract (%)	69.7	69.6	71.8	1.00	0.40	0.56	0.23
Crude protein intake (g/d)	112	109	109	0.65	0.05	0.02	0.98
Flow at duodenum (% of intake)	100.7	108.8	112.6	3.06	0.44	0.16	0.58
Digested up to duodenum (%)	-0.7	-8.8	-12.6	3.06	0.31	0.15	0.58
Digested in intestine							
% of intake	67.2	75.9	82.9	3.74	0.23	0.13	0.38
% of flow to duodenum	66.5	69.7	72.8	5.66	0.14	0.10	0.25
Digested in whole tract (%)	66.4	67.3	70.4	1.14	0.21	0.24	0.15
NDF ⁵ intake (g/d)	539	567	554	5.41	0.06	0.04	0.21
Flow at duodenum (% of intake)	41.7	39.3	41.2	1.43	0.65	0.61	0.45
Digested up to duodenum (%)	58.5	60.7	58.8	1.43	0.65	0.61	0.45
Digested in intestine							
% of intake	7.8	6.3	10.3	2.12	0.54	0.88	0.29
% of flow to duodenum	15.6	14.4	21.1	5.10	0.68	0.78	0.42
Digested in whole tract (%)	66.3	67.0	69.3	1.00	0.32	0.32	0.24
ADF ⁶ intake (g/d)	341	342	334	5.64	0.36	0.64	0.18
Flow at duodenum (% of intake)	48.2	41.4	44.7	1.87	0.31	0.21	0.40
Digested up to duodenum (%)	51.8	58.6	55.3	1.87	0.31	0.21	0.40
Digested in intestine							
% of intake	12.0	6.8	9.8	2.38	0.54	0.40	0.51
% of flow to duodenum	22.5	14.5	18.0	5.01	0.67	0.46	0.68
Digested in whole tract (%)	64.6	65.5	65.1	0.81	0.83	0.60	0.78
Starch intake (g/d)	179	156	158	2.91	< 0.01	< 0.01	0.36
Flow at duodenum (% of intake)	20.5	5.0	7.0	2.72	0.02	0.01	0.71
Digested up to duodenum (%)	79.5	95.0	93.0	2.72	0.04	0.01	0.71
Digested in intestine							
% of intake	20.2	5.0	7.0	2.67	0.04	0.01	0.70
% of flow to duodenum	100.0	40.8	38.9	13.65	0.15	0.06	0.95
Digested in whole tract (%)	99.7	100.0	100.0	0.09	0.33	0.15	1.00

¹Treatment: MG = maize grain as main source of energy in concentrate mixture, HRG = hybrid rye grain as a main source of energy in concentrate mixture, OPRG = open-pollinated rye grain as a main source of energy in concentrate mixture.

²Standard error of the mean.

³In reticulorumen, omasum and abomasum.

⁴Apparently digested.

⁵Neutral detergent fiber.

⁶Acid detergent fiber.

Greater starch flow at the duodenum was observed for MG compared to HRG and OPRG ($P=0.01$; Table 4), and consequently, less starch was digested up to the duodenum and more in the intestine for MG compared to HRG and OPRG ($P=0.01$). However, the majority of starch consumed (79.5, 95.0, and 93.0% for MG, HRG, and OPRG) was digested in the whole stomach, particularly for HRG and OPRG. Since total tract digestibility of starch was almost complete for all treatments, no differences for total tract digestibility of starch were observed between treatments. Apparent CP digestibility up to the duodenum was close to zero for MG treatment and negative for HRG and OPRG (-8.8 and -12.6% , respectively) but did not differ between treatments. On the other hand, CP digestibility in the intestine (calculated as % of flow to the intestine) tended to be greater for HRG and OPRG compared to MG ($P=0.10$). No other differences were observed between MG vs. HRG and OPRG. Moreover, no differences between HRG and OPRG for nutrient flow at the duodenum, digestibility in the stomach, intestine, and whole digestive tract were observed.

Discussion

In this study, we hypothesized that ruminal fermentation and nutrient digestibility of grain derived from hybrid and open-pollinated rye cultivars differ. To verify this hypothesis, wethers were fed not only diets with grain derived from hybrid or open-pollinated rye cultivars, but also maize grain (derived from hybrid variety). Although substantial differences were observed between rye and maize grain feeding on the investigated parameters of ruminal fermentation and nutrient digestibility, no or only minor differences between hybrid rye or open-pollinated rye grain were detected. These results provide evidence for rejecting the hypothesis of this study.

Prior to an in-depth discussion of the results, the specificity and weaknesses of our experimental model need to be mentioned. Rye grain was compared with maize grain to better illustrate the differences between rapidly (rye) and slowly (maize) fermentable starch sources in the rumen and also potential differences between hybrid and open-pollinated rye grain. However, to limit the number of confounding factors between diets, only soybean meal was included in the diets (in addition to cereal grains) to equalize the CP content between treatments. Consequently, the experimental diets were similar for CP concentration but not starch concentration, the most important factor when it comes to the impacts of different cereal grains on ruminal fermentation. Specifically, the starch content was greater for MG compared to HRG and OPRG; thus, differences for ruminal pH between maize grain and rye grain use in the diet could be greater, whereas differences for starch digestibility up to the duodenum could be lower.

Nevertheless, the experimental model used in this study still allowed for illustrating overall differences between maize and rye grain in terms of ruminal fermentation and nutrient digestibility, and also not confounded by different starch concentration in the diet (and also NFC) comparison between hybrid and open-pollinated rye grains, which was the most important aim of this study. Particularly, starch intake

did not differ between HRG and OPRG, although starch concentration was slightly higher for the latter one. Furthermore, one marker system was used in this study, which could have resulted in under- or overestimation of nutrient flow at the duodenum, with the former one being more probable (based on the substantial proportion of fiber digested in the intestine in the current study, as compared to the results of other studies; Titgemeyer, 1997). However, once again, the result of the current study allowed for a reasonable comparison of hybrid rye grain and open-pollinated rye grain usage in the diet on the investigated parameters of ruminal fermentation and nutrient digestion in sheep.

In general, maize starch has a slow rate and low extent of degradation in the rumen, whereas wheat, barley, and rye starches are rapidly and extensively degraded (Benninghoff et al., 2015; Krieg et al., 2017; Rajtar et al., 2020). These differences between maize and rye grain were also confirmed in the current study, as indicated by less starch digested in the whole stomach and more in the intestine, as well as a higher ruminal pH when the animals were fed MG compared to HRG and OPRG. As already mentioned, these differences could be even greater taking into account that starch intake was greater for MG compared to HRG and OPRG, indicating large difference between maize grain and rye grain in terms of their impact on ruminal fermentation and digestion in this region of the gastrointestinal tract. However, one has to take into account that in the current study, only several parameters of ruminal fermentation were investigated and that digestibility was measured in the whole stomach, with possible substantial contribution of not only rumen but also omasum to this digestibility (Ahvenjärvi et al., 2000). Although these differences between maize grain and rye grain are quite well known (Benninghoff et al., 2015; Krieg et al., 2017; Rajtar et al., 2020), a considerable variation may occur within starch sources, e.g., between batches of grain derived from the same species but different cultivars (Silveira et al., 2007; Zhao et al., 2016; Krieg et al., 2017). For example, in pigs, the digestibility of most amino acids in older rye cultivars was greater than that in newer cultivars of hybrid rye; however, few studies have evaluated the digestibility of hybrid rye in pigs to date (Strang et al., 2016). Also, using *in vitro* and *in situ* methods, Krieg et al. (2017) showed substantial differences in ruminal digestibility and degradability of rye grain derived from different genotypes. In contrast to the results of the aforementioned studies, in the current study, no differences between rye grain derived from various genotypes on ruminal fermentation and nutrient digestion were shown when used as a part of the sheep diets.

Non-starch polysaccharides are present in high concentrations in rye grain, with arabinoxylans, mixed-linked β -glucans, and cellulose being most abundant (Bach Knudsen, 1997). On a DM basis, the concentration of arabinoxylans in rye may vary greatly, ranging from 6 to 12% (Hansen et al., 2003; Jürgens et al., 2012; Strang et al., 2016; Rodehutschord et al., 2016). Rye arabinoxylans are also more soluble in water and more fermentable than arabinoxylans present in other cereal grains (Le Gall et al., 2009; Jürgens et al., 2012). Moreover, the concentration of Klason lignin in rye may vary from 1 to 2% and that of ADL from 0.7 to 0.9% (Strang et al., 2016; Rodehutschord et al., 2016), of which increased concentrations reduce the digestibility of nutrients (Wenk, 2001). Although conducted on pigs, the results of a previous study

indicate that the intake of particular carbohydrates present in rye (and cereal grains in general) may affect microbial fermentation in the gastrointestinal tract (Glitsø et al., 2000).

As such, taking into account possible differences in nutrient content and antinutritional factors between hybrid and open-pollinated rye grain (Strang et al., 2016; Makarska et al., 2007; Miedaner and Geiger, 2015), differences in investigated parameters of ruminal fermentation and nutrient digestion in different regions of the gastrointestinal tract were expected. A lack of such differences (except some minor differences for ruminal pH) could simply be a result of no differences for concentrations of most carbohydrates between the hybrid rye grain and the open-pollinated rye grain used in the current study. Only a slightly greater starch concentration in open-pollinated rye compared to hybrid rye grain was observed (and also in the concentrate mixture fed to OPRG compared to HRG), which may explain the slightly lower ruminal pH for OPRG compared to HRG (Figure 1). However, the NFC concentration in the diet did not differ between OPRG and HRG as well as starch intake, indicating that the rye genotype affects ruminal fermentation to some extent.

It has been shown that the chemical composition of grain may be affected to a larger extent by environmental factors or cultivation (e.g., planting time, harvest time, fertilization) than by genotype (Andersson et al., 1993; Coles et al., 1997). For example, Boros et al. (unpublished) showed, unexpectedly, that hybrid rye grain contained more arabinoxylans and total dietary fiber than more traditional rye grain from open-pollinated cultivars. Consequently, ruminal fermentability of grain may be more significantly affected by environmental factors during vegetation than by the cultivar of the plant itself, as already discussed by others (Krieg et al., 2017). The chemical compositions of hybrid and open-pollinated rye grain used in the present study were similar, indicating that possible differences during cultivation and harvesting of rye used for this study did not have a substantial impact on the chemical composition of the grain or, alternatively, contributed to the similar composition. However, it has to be mentioned that in the current study, feed intake by the sheep was restricted and, in general, ruminal pH was quite high also for HRG and OPRG treatments. Thus, the experimental design of this study could allow for detecting only substantial – but not minor – differences between HRG and OPRG than could be observed in animals fed *ad libitum*.

Rumen pH is dependent on the rates of SCFA production and absorption, the secretion of salivary buffer, and the endogenous buffering capacity of feeds/digesta (Allen, 1997). Although reduced ruminal pH was observed when rye grain was fed to animals, there were, in general, no differences in total or individual concentrations of SCFA. The only difference noted was the greater valeric and isovaleric acid concentration in the rumen fluid when maize grain was fed to the animals. Those differences are undisputedly biased by the greater starch intake in the MG treatment compared to HRG and OPRG. However, valeric and isovaleric acid are a result of amino acid breakdown by microbes in the rumen and are required for the growth of ruminal microorganisms. In particular, valeric and isovaleric acid are used by microbes involved in fiber fermentation (Cline et al., 1958; Andries et al., 1987). Differences in the rate and extent of maize and rye fermentation in the rumen likely

affected both feed protein breakdown and microbial protein synthesis in the rumen, also due to differences in starch concentration between diets, and thus, valerate and isovalerate synthesis and use, both contributing to the observed differences between the treatments (Cline et al., 1958; Muller, 1987). Of importance, both the molar proportion of valerate and isovalerate in total SCFA did not differ between HRG and OPRG, which provides further evidence of a lack of a substantial impact of rye grain derived from various genotypes on the investigated parameters of ruminal fermentation in the current study.

In the current study, crude protein flow at the duodenum exceeded CP intake, which resulted in negative digestibility coefficients for CP up to the duodenum. This was most likely due to the relatively low CP concentration in the diet ($\approx 9.5\%$ of DM) in the current study; however, negative values for CP digestibility in forestomach can be observed also when the protein concentration in the diet is much higher (Chibisa et al., 2012). A low protein concentration in the diet enhances nitrogen recycling to the rumen, which, in combination with sufficient fermentable energy intake, allows for efficient microbial protein synthesis in the rumen (Titgemeyer, 1997). Thus, fermentable energy intake in the current study likely allowed for efficient microbial protein production in the rumen, irrespective of the grain source (rye or maize) that was used in the diet. The latter one is supported by no differences in the CP flow at the duodenum canal between treatments. However, the digestibility of CP in the intestine tended to be higher for rye grain compared to maize grain.

According to McAllister et al. (1993) and Krieg et al. (2017), interactions of the protein matrix with starch granules and variation in the properties of cereal grain proteins could contribute to the differences in starch degradation kinetics in the rumen. In our earlier studies, the kinetic of *in situ* CP degradation for rye grain and maize grain was similar to that of their starch degradation (Rajtar et al., 2020). Furthermore, in the mentioned study, the correlation between effective rumen degradation of starch and CP was high, supporting the results of other studies (Svihus et al., 2005; Krieg et al., 2017). In consequence, the rumen-undegradable fraction of protein derived from cereal grain was likely greater for MG than HRG and OPRG, although there were no differences for CP flow out of the rumen. Hence, the observed differences for CP digestion in the intestine can be attributed to differences in the composition of protein flowing into the duodenum. However, those differences were undisputedly also biased by the greater starch intake in the MG treatment. Furthermore, it cannot be excluded that increased starch flow to the intestine for the MG treatment could increase the amount of starch fermented in the intestine and associated microbial growth in the lower regions of the gastrointestinal tract (Li et al., 2012; Metzler-Zebeli et al., 2013). This could contribute to an underestimation of total tract digestibility of CP for the sheep fed a diet with maize grain.

Conclusions

Under the conditions of the current study, no differences in ruminal SCFA, ammonia, ruminal pH, as well as nutrient digestion up to the duodenum and intestine were observed when sheep were fed diets with grain from hybrid or open-pollinated

rye cultivars. Rye grain starch is more digestible up to the duodenum compared to starch of maize grain, which likely contributes to a lower rumen pH when rye grain is used in the diet compared to maize grain.

Acknowledgements

The authors would like to thank K. Strumiński, A. Marszałek, B. Dudzik and W. Malik for their technical support and K. Słota, O. Lasek, M. Sabatowicz, J. Flaga and Ł. Korytkowski for assistance with sample collection. Also, the consultations with E. Wierzchoś in terms of veterinary care of the animals and support of M. Gzowska with feed samples analysis are acknowledged.

References

- AACC (2011). International approved methods of analysis. 11th Ed. St. Paul, MN, USA.
- Ahvenjärvi S., Vanhatalo A., Huhtanen P., Varvikko T. (2000). Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *Brit. J. Nutr.*, 83: 67–77.
- Allen M.S. (1997). Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.*, 80: 1447–1462.
- Andersson R., Westerlind E., Tilly A.C., Åman P. (1993). Natural variations in the chemical composition of white flour. *J. Cereal Sci.*, 17: 183–189.
- Andries J.I., Buysse F.X., De Brabander D.L., Cottyn B.G. (1987). Isoacids in ruminant nutrition: Their role in ruminal and intermediary metabolism and possible influences on performances – A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 18: 169–180.
- Arzewska-Włosek A., Świątkiewicz S., Bederska-Łojewska D., Orzewska-Dudek S., Szczurek W., Boros D., Fraś A., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Muszyński S., Kwiecień M., Schwarz T. (2019). The efficiency of xylanase in broiler chickens fed with increasing dietary levels of rye. *Animals*, 9: 46.
- Bach Knudsen K.E. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 67: 319–338.
- Bederska-Łojewska D., Arzewska-Włosek A., Świątkiewicz S., Orzewska-Dudek S., Schwarz T., Puchała M., Krawczyk J., Boros D., Fraś A., Micek P., Rajtar P. (2019). The effect of different dietary levels of hybrid rye and xylanase addition on the performance and egg quality in laying hens. *Brit. Poultry Sci.*, 60: 423–430.
- Benninghoff J., Paschke-Beese M., Südekum K.H. (2015). *In situ* and *in vitro* ruminal degradation of maize grain and untreated or xylose-treated wheat, barley and rye grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 210: 86–93.
- Chibisa G.E., Christensen D.A., Mutsvangwa T. (2012). Effects of replacing canola meal as the major protein source with wheat dried distillers grains with solubles on ruminal function, microbial protein synthesis, omasal flow, and milk production in cows. *J. Dairy Sci.*, 95: 824–841.
- Cline J.H., Hershberger T.V., Bentley O.G. (1958). Utilization and/or synthesis of valeric acid during the digestion of glucose, starch and cellulose by rumen micro-organisms *in vitro*. *J. Anim. Sci.*, 17: 284–292.
- Coles G.D., Hartunian-Sowa S.M., Jamieson P.D., Hay A.J., Atwell W.A., Fulcher R.G. (1997). Environmentally-induced variation in starch and non-starch polysaccharide content in wheat. *J. Cereal Sci.*, 26: 47–54.
- Conway E.J. (1962). Ammonia. General method. In: *Microdiffusion analysis and volumetric error*. Crosby Lockwood and Son Ltd., London, UK, pp. 98–100.
- Englyst H.N., Cummings J.H. (1984). Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109: 937–942.

- Erwin E.S., Marco G.J., Emery E.M. (1961). Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, 44: 1768–1771.
- Faisant N., Planchot V., Kozłowski F., Pacourent M.P., Colonna P., Champ M. (1995). Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. *Sci. Alim.*, 15: 83–89.
- Geiger H.H., Miedaner T. (2009). Rye breeding. In: *Cereals (Handbook of plant breeding)*, 1st ed., Carena M.J. (ed.). Springer: New York, NY, USA, pp. 157–181.
- Glitsø L.V., Jensen B.B., Bach Knudsen K.E. (2000). *In vitro* fermentation of rye carbohydrates including arabinoxylans of different structure. *J. Sci. Food Agr.*, 80: 1211–1218.
- Górka P., Śliwiński B., Flaga J., Wieczorek J., Godlewski M.M., Wierchoś E., Zabielski R., Kowalski Z.M. (2017). Effect of butyrate infusion into the rumen on butyrate flow to the duodenum, selected gene expression in the duodenum epithelium, and nutrient digestion in sheep. *J. Dairy Sci.*, 95: 2144–2155.
- Hansen H.B., Rasmussen C.V., Bach Knudsen K.E., Hansen Å. (2003). Effects of genotype and harvest year on content and composition of dietary fibre in rye (*Secale cereale* L.) grain. *J. Sci. Food Agric.*, 83: 76–85.
- Heuzé V., Tran G., Nozière P., Lessire M., Lebas F. (2015). Rye grain and by-products. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. <https://www.feedipedia.org/node/225>. Last updated on October 26, 2015, 15:37.
- INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) (2007). Feeding of cattle, sheep and goats. Requirements for animals. Food values (in French: Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux. Valeurs des aliments). Éditions Quæ (INRA), Versailles, France.
- Jürgens H.-U., Jansen G., Wegener C.B. (2012). Characterisation of several rye cultivars with respect to arabinoxylans and extract viscosity. *J. Agric. Sci.*, 4: 1–12.
- Katina K., Hartikainen K., Poutanen K. (2014). Process-induced changes in rye foods – rye baking. In: *Rye and Health*, K. Poutanen, P. Åman (eds). AACC International Press, pp. 7–21.
- Krieg J., Siegfried N., Steingass H., Rodehutschord M. (2017). *In situ* and *in vitro* ruminal starch degradation of grains from different rye, triticale and barley genotypes. *Animal*, 11: 1745–1753.
- Le Gall M., Serena A., Jørgensen H., Theil P.K., Bach Knudsen K.E. (2009). The role of whole-wheat grain and wheat and rye ingredients on the digestion and fermentation processes in the gut – a model experiment with pigs. *Brit. J. Nutr.*, 102: 1590–1600.
- Li S., Khafipour E., Krause D.O., Kroeker A., Rodriguez-Lecompte J.C., Gozho G.N., Plaizier J.C. (2012). Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 95: 294–303.
- Loy D.D., Lundy E.E. (2019). Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00023-1>
- Makarska E., Gruszecka D., Gardzielewska A. (2007). The content of alkylresorcinols and trypsin inhibitors activity in translocational rye strains and parental components *Secale cereale* L. and *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy. *Ann. UMCS, Lublin, Polonia*, LXII: 117–121.
- McAllister T.A., Phillippe C., Rode L.M., Cheng K.J. (1993). Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, 71: 205–212.
- McGrath J., Duval S.M., Tamassia L.F.M., Kindermann M., Stemmler R.T., de Gouve V.N., Acedo T.S., Immig I., Williams S.N., Celia P. (2018). Nutritional strategies in ruminants: A lifetime approach. *Res. Vet. Sci.*, 116: 28–39.
- Metzler-Zebeli B.U., Hollmann M., Sabitzer S., Podstatzky-Lichtenstein L., Klein D., Zebeli Q. (2013). Epithelial response to high-grain diets involves alteration in nutrient transporters and Na⁺/K⁺-ATPase mRNA expression in rumen and colon of goats. *J. Anim. Sci.*, 91: 4256–4266.
- Miedaner T., Geiger H.H. (2015). Biology, genetics, and management of ergot (*Claviceps* spp.) in rye, sorghum, and pearl millet. *Toxins*, 7: 659–678.
- Muller L.D. (1987). Branched chain fatty acids (isoacids) and valeric acid for ruminants. *Prof. Anim. Sci.*, 3: 9–12.
- Penner G.B., Beauchemin K.A., Mutsvangwa T. (2006). An evaluation of the accuracy and

- precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system. *J. Dairy Sci.*, 89: 2132–2140.
- Penner G.B., Aschenbach J.R., Gabel G., Oba M. (2009). Technical note: Evaluation of a continuous ruminal pH measurement system for use in noncannulated small ruminants. *J. Anim. Sci.*, 87: 2363–2366.
- Pfister J.A. (1985). Technical notes: An effective fecal harness for free-grazing goats. *J. Range Manage.*, 38: 184–185.
- Pieszka M., Kamyńczek M., Rudzki B., Łopuszańska-Rusek M., Pieszka M. (2015). Evaluation of the usefulness of hybrid rye in feeding Polish Holstein-Friesian dairy cows in early lactation. *Ann. Anim. Sci.*, 15: 929–943.
- Rajtar P., Górka P., Schwarz T., Micek P. (2020). Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Ann. Anim. Sci.*, 20: 1065–1083.
- Robertson J.B., Van Soest P.J. (1981). The detergent system analysis and its application to human foods. In: *The analysis of dietary fiber in food*, J. Theander (ed.). Dekker INC, pp. 123–157.
- Rodehutsord M., Rückert C., Maurer H.P., Schenkel H., Schipprack W., Bach Knudsen K.E., Schollenberger M., Laux M., Eklund M., Siegert W. (2016). Variation in chemical composition and physical characteristics of cereal grains from different genotypes. *Arch. Anim. Nutr.*, 70: 87–107.
- Schwarz T., Kuleta W., Turek A., Tuz R., Nowicki J., Rudzki B., Bartlewski P.M. (2015). Assessing the efficiency of using a modern hybrid rye cultivar for pig fattening, with emphasis on production costs and carcass quality. *Anim. Prod. Sci.*, 55: 467–473.
- Seifried N., Steingass H., Hoffmann N., Rodehutsord M. (2016). *In situ* starch and crude protein degradation in the rumen and *in vitro* gas production kinetics of wheat genotypes. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 101: 779–790.
- Sharma H.R., Ingalls J.R., McKirdy J.A., Sanford L.M. (1981). Evaluation of rye grain in the diets of young Holstein calves and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 64: 441–448.
- Siddons R.C., Paradine J., Beever D.E., Cornell P.R. (1985). Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta-flow marker. *Brit. J. Nutr.*, 54: 509–519.
- Silveira C., Oba M., Yang W.Z., Beauchemin K.A. (2007). Selection of barley grain affects ruminal fermentation, starch digestibility, and productivity of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90: 2860–2869.
- Smit M.N., Zhou X., Landero J.L., Young M.G., Beltranena E. (2019). Increasing hybrid rye level substituting wheat grain with or without enzyme on growth performance and carcass traits of growing-finishing barrows and gilts. *Tran. Anim. Sci.*, 3: 1561–1574.
- Strang E.J.P., Eklund M., Rosenfelder P., Sauer N., Htoo J.K., Mosenthin R. (2016). Chemical composition and standardized ileal amino acid digestibility of eight genotypes of rye fed to growing pigs. *J. Anim. Sci.*, 94: 3805–3816.
- Svihus B., Uhlen A.K., Harstad O.M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 122: 303–320.
- Theander O., Åman P., Westerlund E., Andersson R., Pettersson D. (1995). Total dietary fiber determined as neutral sugar residues, uronic acids and klason lignin, gas chromatographic-colorimetric-gravimetric method (Uppsala Method), AOAC method 994.13. *Official Methods of Analysis*, 16th ed., 1st suppl.
- Titgemeyer E.C. (1997). Design and interpretation of nutrient digestion studies. *J. Anim. Sci.*, 75: 2235–2247.
- van Ryssen J.B.J., Mavimbela D.T. (1999). Broiler litter as a source of selenium for sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78: 263–272.
- Warren F.S., Langille J.E., Riordan H.A. (1963). Rye for forage and grain in the Atlantic Provinces. *Can. Dep. Agric. Publ.*, 1185.
- Wenk C. (2001). The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 90: 21–33.
- Węsierska E., Niemczyńska K., Pasternak M., Arczewska-Włosek A. (2019). Selected physical and chemical characteristics of eggs laid by hens fed diets with different levels of hybrid rye. *Ann. Anim. Sci.*, 19: 1009–1020.

Zhao Y., Yan S., He Z., Anele U.Y., Swift M.L., McAllister T.A., Yang W. (2016). Effect of starch content and processing method on *in situ* ruminal and *in vitro* intestinal digestion of barley grain in beef heifers. Anim. Feed Sci. Tech., 216: 121–128.

Received: 10 VII 2020

Accepted: 19 XI 2020



EFFECT OF REPLACING MAIZE GRAIN BY HYBRID RYE GRAIN IN THE TMR ON PERFORMANCE OF MID-LACTATING DAIRY COWS*

Patrycja Rajtar¹, Marek Sady², Paweł Górka¹, Sylvia Kehoe³, Piotr Micek^{1*}

¹Department of Animal Nutrition and Biotechnology, and Fisheries, University of Agriculture in Krakow, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland

²Department of Animal Product Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland

³Department of Animal and Food Science, University of Wisconsin – River Falls, 410 S. 3rd Street, River Falls WI 54022, USA

*Corresponding author: rzmicek@cyf-kr.edu.pl

Abstract

Grain from traditional varieties of rye is not commonly used in dairy cattle nutrition. However, new hybrid varieties of rye currently available are characterized by some nutritional and agro-technical benefits. This paper deals with the hypothesis that rye grain derived from a hybrid variety may be an alternative for maize grain in diets for dairy cattle. Sixteen lactating Polish Holstein-Friesian cows were divided into two groups according to their parity (8 primi- and 8 multiparous), stage of lactation (106 ± 30 days after calving) and milk yield (34 ± 4 kg/day). Cows were fed a total mixed ration (TMR) containing grass silage and whole crop maize silage and 29.2% of the concentrate (in dry matter). The latter contained approximately 48% (as fed) of either maize grain (M) or hybrid rye grain (HR) as a main source of cereal grain. Experimental diets were fed for 9 weeks. The use of HR as a substitute for M did not affect ($P > 0.05$) dry matter intake and milk yield. There were no differences between treatments in the content of milk solids, amino acids, and fatty acid profile. However, substituting M by HR positively influenced composition of milk protein fractions by increasing the proportion of α -casein (37.0 vs 39.7%; $P < 0.01$) and κ -casein (6.5 vs 7.3%; $P = 0.02$) as well as decreasing the proportion of β -casein (28.8 vs 27.8%; $P = 0.02$) and sensory characteristics of the milk (body and texture, and taste; $P < 0.05$). In turn, the composition of the diet did not affect the technological suitability for processing of milk fat (acid and peroxide number, melting and solidification temperature), rennet coagulation time, heat stability or titratable acidity. This study has shown that hybrid rye grain may be an alternative for maize grain in a TMR based on grass and whole maize silage for mid-lactation dairy cows. Further studies are needed with higher proportion of hybrid rye grain in TMR or with other roughages used in a basal diet to fully determine efficiency of hybrid rye grain use in diets for dairy cows.

Key words: hybrid rye grain, dairy cows, feed intake, milk yield and composition

*This study was supported by funds from the National Centre for Research and Development (NCRD), ENERGYFEED grant, project No BIOSTRATEG2/297910/12/NCBR/2016.

Among cereal grains, maize grain is a preferable source of energy in diets for high yielding dairy cows. Particularly, maize grain contains starch that slowly degrades in the rumen which limits the probability of developing subacute rumen acidosis, commonly observed in high yielding dairy cows (Plaizier et al., 2009). Thus, feeding cows with maize grain and maize silage as a main source of dietary energy may cause an increase in milk yield while avoiding incidence of health issues. However, compared to other types of cereals, maize is more susceptible to contamination by various molds, especially *Fusarium* spp., which produce mycotoxins that have deleterious effects on animal health (Grenier and Oswald, 2011). Additionally, in some regions of the world, difficulties in its cultivation (e.g. low resistance to drought and difficulties in controlling pests) and increasing competition with biogas production, limit accessibility and increase the cost of maize for livestock production. Therefore, alternatives are needed that could replace maize in a total mixed ration (TMR) for dairy cows. Mid or late stage lactation cows are especially good candidates for such replacement due to a lower requirement for nutrients and energy, compared to cows in early lactation.

Grain from traditional varieties of rye (i.e. open-pollinated) is not commonly used in dairy nutrition. This is mostly due to rye grain's lower energy content and higher content of anti-nutritive substances, compared to other cereal grains (Sharma et al., 1981; Sauvant et al., 2004; Micek, 2008). There are also disadvantages of using rye grain over maize grain, such as higher ruminal degradation of starch (96.0% vs 48.1% respectively for rye and maize grain of flint-dent type; Micek, 2008). Also, rye grain's total non-starch polysaccharides (T-NSP) and soluble sugars as well as significant levels of phenolic compounds and water-soluble polysaccharides may negatively contribute to changes in rumen fermentation patterns (Rajtar et al., 2020). Specifically, their high susceptibility to rumen degradation in combination with rapidly fermented starch can lead to the risk of subacute ruminal acidosis (Krieg et al., 2017).

However, new hybrid varieties of rye are currently available on the market that could be attractive for dairy producers. Those varieties possess some nutritional and particularly agrotechnical benefits over traditional ones, such as higher yield and higher resistance to disease, frost and/or ergot and higher tolerance to low soil nitrogen availability and high plant population density (Petr and Mikšik, 2006). They are also characterized by lower content of anti-nutritional substances and mycotoxins compared to wheat or maize, and contain more minerals, lysine, and fiber (Jürgens et al., 2012; Rodehutschord et al., 2016). As a result, a use of hybrid rye varieties can translate into more efficient production of the crop as well as its utilization by dairy cows, similar to other cereal grains that are more commonly used. Furthermore, there are indications that using rye grain in lactating dairy cow diets can alter the proportion of unsaturated fatty acids in milk fat which can increase the health promoting properties of milk for humans (Pieszka et al., 2015).

In this study, we hypothesized that the substitution of maize grain with hybrid rye grain variety could not only positively modify the milking performance of Holstein cows but also the composition of the milk and its suitability for further processing. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of substituting maize

grain with hybrid rye grain in the diet of mid-lactation dairy cows on feed intake, milk yield, milk composition, as well as the technological processing suitability characteristics for cheese or butter production, such as milk protein fractions or milk fat quality parameters.

Material and methods

The experimental procedures followed Polish Law on Animal Protection which is in accordance with EU Directive 2010/63/EU for animal experiments.

Animals, housing, husbandry and experimental design

The trial was conducted at a research dairy farm belonging to the Institute of Genetics and Animal Breeding of the Polish Academy of Sciences in Jastrzębiec, located in the central part of Poland (Kosowo, Masovian Voivodeship, Poland). The research barn was a freestall barn equipped with electronic device (Roughage Intake Control System, Insentec B.V., The Netherlands), allowing for individual feed intake monitoring. The cows were fed TMR that was added to the feeders twice daily (at 6 a.m. and 6 p.m.) with refusals removed the next day prior to new feed allocation. Treatment TMR were prepared using a Super Data Ranger feeding wagon (SDR, American Calan, New Hampshire, USA), which was also used to remove refusals from individual feeders. The cows were milked twice daily (5 a.m. and 5 p.m.) in a herringbone milking parlor where milking performance of cows was recorded.

The experiment was conducted on 16 Polish Holstein-Friesian (8 primi- and 8 multiparous) mid-lactating dairy cows. The cows were divided into 2 groups, ensuring the same number of primi- and multiparous cows per treatment (parity 1.9 ± 1.1), similar stage of lactation (106 ± 30 DIM) and milk yield (34 ± 4 kg/day) at the beginning of the study. Cows were fed TMR based on grass silage and whole crop maize silage containing concentrate (29.2% of DM) with either maize grain (cultivar Podium; trilinear hybrid variety with flint-dent type of grain; KWS Lochow Poland; M) or hybrid rye grain (cultivar BONO, KWS Lochow Poland; HR). The concentrate mixture was delivered in meal (mash) form (Table 1).

The TMR were formulated using INRAtion software (v. 4.0, INRA, France) based on INRA (2007) recommendations for a 650 kg cow producing 35 kg/day of milk containing 40 g/kg of fat and 34 g/kg of protein, and were fed free choice (10% refusals). Similar protein and energy content for M and HR were achieved by balancing the treatment cereal grain with canola cake proportions in the concentrate mixture (Table 1). In consequence, daily intake of maize grain or hybrid rye grain differed between treatments with estimated intakes of 3.65 and 3.80 kg/cow/day for maize grain and hybrid rye grain, respectively. The entire trial lasted 9 weeks (63 days) and consisted of 1 week of adaptation to the individual feeders, 4 weeks of adaptation to experimental diets, and 4 weeks of the data collection period.

Sampling and chemical analysis

Dry matter intake (DMI) was calculated daily based on individual feed intake for each cow and dry matter (DM) content in TMR and refusals. The samples of TMR for each treatment were collected daily and kept at 2°C, and then samples were pooled weekly and kept frozen (-18°C) for further analyses. The same procedure was used for individual refusals of each cow. For calculation of DMI, representative weekly samples of TMR and refusals were dried in a forced-air oven at 50°C for 48 hours. The content of DM, crude ash, crude protein (CP), ether extract (EE) and acid detergent fiber (ADF) were determined according to AOAC (2005) (procedure 934.01, 942.05, 954.01, 920.39 and 973.18, respectively) on dried and ground samples (1.0 mm sieve, Pulverisette 15 Laboratory Cutting Mill, Fritsh GmbH, Idar-Oberstein, Germany) of TMR and refusals. Neutral detergent fiber (aNDF) was analyzed with heat-stable amylase according to van Soest et al. (1991) using an Ankom²²⁰ Fiber Analyzer (ANKOM Technology, NY, USA). The starch content was determined by an enzymatic method (Faisant et al., 1995) and ADL according to Robertson and Van Soest (1981). Data on nutrient content in TMR and refusals were also used to calculate nutrient intake. Representative samples of ingredients used for diet formulation were taken and analyzed before beginning the experiment, and weekly, using the same procedures as described for TMR.

Milk analysis

Milk was collected from each cow once a week during the data collection period, always at the same day of the week (Monday evening/Tuesday morning), both during the evening and morning milkings. For milk composition analysis, samples collected during both milkings were subsampled proportionally to obtain about 1.5 liters and a 50 mL representative sample of daily milk for each cow was stored in polypropylene containers containing a preservative (Microtabs II, Bentley, Norwood, MA, USA). Additionally two 10 mL containers of daily milk were immediately frozen and stored at -18°C for analysis of amino acid (AA) content and fatty acid (FA) profile. Determination of the basic components of milk (protein, fat, lactose and urea) was performed using a MilkoScan FT2 (Foss Analytical, Hilleroed, Denmark). The somatic cell count (SCC) was measured using an IBCM device (Bentley Instruments, MN, USA).

The content of individual milk protein fractions (α -casein, β -casein, κ -casein, β -lactoglobulin, α -lactalbumin, immunoglobulins, serum albumin, lactoferrin and free peptides) were determined by SDS-PAGE gel electrophoresis performed according to the methodology described by Laemmli (1970). For this purpose, 0.3 ml of daily pooled fresh milk samples from each cow, or 20 μ l of whey, was dissolved in 1 ml or 40 μ l of a reducing buffer (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.5% bromophenol blue, β -mercaptoethanol, and deionized water) and heated at 95°C for 4 minutes. Five μ l of prepared sample was added to each polyacrylamide gel. In the same volumes, milk protein standards were placed in the end wells of the gel. The separation was carried out at a voltage of 100 mV on a 12% SDS-PAGE polyacrylamide gel. The Mini Protean 3Cell device (Bio-Rad, Hercules, CA) was used for separation. The obtained gels were stained in R 250 Coomassie solution, and after

discoloration, scanned and quantified using a Gelscan v.2.0 software (Kucharczyk, Warsaw, Poland).

The percentage of fatty acids (FA) in milk fat was determined by gas chromatography using a Varian apparatus 450-GC with an FID detector and CP-SIL 88 (FAME, length 100 m, diameter 0.25 mm) column and lipid extraction from milk was carried out according to Folch and Lees (1957). The AA content in milk was determined by liquid chromatography using an INGOS AAA-400 amino acid analyzer (Prague, Czech Republic) equipped with an Ostion LG ANB (370 mm) column. Column temperature was 55°C, reactor temperature 120°C, detection wavelengths 440 and 570 nm. Fatty acid and AA content were performed on a previously daily pooled frozen milk sample, thawed to 18°C and further pooled per cow from 4 consecutive weeks of the data collection period.

The titratable acidity was determined by the Soxhlet–Henkel method (SH). Evaluation of heat stability of milk at 140°C was carried out using the method described by Crowley and Dowling (2016). Evaluation of the rennet coagulation time (RCT) of milk was carried out by Schern's method, using commercial rennet powder Fromase 2200TL (activity 2200 IMCU g⁻¹; DSM Specialities, Brøndby, Denmark). For this purpose, 100 mL of a daily pooled fresh milk sample from each cow was heated to 35°C in a water bath, after which 1 mL of rennet solution (6.7 g L⁻¹) was added. The RCT was the time, expressed in seconds, elapsed from rennet addition to the first appearance of casein flocules.

The procedure used for determination of acid number was in accordance with the Polish standard PN-EN ISO 660:2010 (2010), peroxide number in accordance with the PN-ISO 3976:2014-11 (2014), melting temperature in accordance with the PN-EN-ISO 6321:2004 (2004) and solidification temperature in accordance with the PN-A-86927 (1961). The melting point in the present research was assumed as the temperature at which the previously solidified fat became completely clear, whereas the solidification temperature was determined as the beginning of its solidification.

Sensory evaluation was carried out on fresh milk pooled per treatment group (in each of 4 consecutive weeks of the data collection period) and then pasteurized milk according to ISO 4121:2003 (2003). For this purpose, the milk was heated at 85°C for 15 sec then cooled and stored at 4°C until the next day in which the assessment was carried out. Directly before the analysis, the milk was heated to 18°C. Sensory evaluation was conducted according to a 5-point scale (5-excellent, 4-good, 3-fair, 2-poor, 1-unacceptable) by a panel of 5 assessors, all of whom fulfilled the basic requirements for sensory sensitivity according to PN-ISO 3972:2016-07 (2016). The following quality descriptors and corresponding importance factor were taken into account in this assessment: appearance and color – 0.15, body and texture – 0.10, odor – 0.35, and taste – 0.40. The descriptor of overall sensory quality for a product was evaluated by using the importance factor for individual quality descriptors. The overall score was established by dividing the total points (the product of the marks for particular characteristics and their importance factors) for a given product by the sum of the importance factors.

Statistical analysis and calculations

Data were analyzed as a completely randomized design. Data on dry matter and nutrient intake as well as milk yield and milk component yield were reduced to weekly means and then analyzed using the MIXED procedure of SAS (2002). The SCC were log-transformed prior to analysis to achieve normal distribution of the data. The statistical model included the random effect of cow and the fixed effects of time (week), diet, and the time by diet interaction, with time considered as a repeated measure in the model. Furthermore, effect of parity and its interaction with diet and time was tested in the model; however, it turned out to be not significant ($P>0.05$) and was removed from the model. Data on AA content, FA profile and indicators of milk quality were performed on pooled milk for each cow using the GLM procedure of SAS. Differences were considered significant at $P<0.05$ and tendencies between 0.05 and 0.10.

Results

The TMR used for M and HR groups (Table 1) had similar ash and CP content (in DM). The M diet contained slightly more EE and starch but less aNDF than HR, as an effect of differences shown in chemical composition of maize and rye grains (Table 2). The diets did not differ in net energy or absorbable true protein in the small intestine (PDI) content. No diet \times time (week) interaction was shown for any of the intake (Table 3) or milk composition parameters apart from milk fat and milk urea content (Table 4). There were no significant differences ($P=0.29$) in DMI and CP intake ($P=0.26$) between treatment groups (Table 3). A higher intake of EE ($P<0.01$) and starch ($P=0.05$) was observed for the M, compared to HR group. Cows from the HR group consumed 9.12 kg/day aNDF, which tended to be 0.33 kg more than the M group ($P=0.07$). This was due to the slightly higher fiber content in HR compared to the M group. Average milk yield of cows was 27.26 and 28.61 kg/day for HR and M group, respectively, and did not differ between groups ($P\geq 0.14$; Table 4).

Table 1. Ingredients, chemical composition and nutritive value of treatment diets

Item	Diet ¹	
	M	HR
1	2	3
TMR ingredients (% of DM)		
whole-crop maize silage	18.8	18.8
grass silage	39.0	39.0
straw	5.6	5.6
high moisture corn grain silage	7.4	7.4
maize grain	13.7	–
rye grain	–	14.3
soybean meal	8.2	8.2
canola cake	5.0	4.4

Table 1 – contd.

1	2	3
limestone	0.7	0.7
NaHCO ₃	0.8	0.8
vitamix KW ²	0.8	0.8
Chemical composition and nutritive value of TMR		
dry matter (%)	52.4	51.6
in dry matter (g/kg of DM):		
crude protein	147	146
aNDF ³	377	397
ADF ⁴	230	232
starch	238	234
crude ash	94	97
ether extract	36	33
Ca	0.81	0.81
P	0.40	0.40
UFL ⁵ (in kg of DM)	0.90	0.90
PDIN ⁶ (g/kg of DM)	97.6	96.3
PDIE ⁷ (g/kg of DM)	91.2	90.2

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.

²Mineral-vitamin additive (Polmass SA Poland). In 1 kg: Ca 190 g, P 40 g, Na 50 g, Zn 9000 mg, Mn 4000 mg, Cu 900 mg, Se 45 mg, I 90 mg, Co 25 mg, vit. A 1000000 iu, vit. D₃ 120000 iu, vit. E 4000 iu, vit. B₁ 150 mg, vit. B₂ 100 mg, vit. B₆ 50 mg, vit. B₁₂ 0.55 mg, niacinamide 2500 mg, biotin 100 mg, folic acid 100 mg, calcium pantothenate 300 mg.

³aNDF – neutral detergent fiber determined with heat-stable amylase.

⁴ADF – acid detergent fiber.

⁵UFL – net energy for lactation (INRA, 2007).

⁶PDIN – true protein absorbable in the small intestine when N is limiting in the rumen (INRA, 2007).

⁷PDIE – true protein absorbable in the small intestine when energy is limiting in the rumen (INRA, 2007).

Table 2. Chemical composition of maize and rye grain

Item	Maize	Rye
Dry matter (%)	89.4	88.3
In dry matter (g/kg of DM)		
crude protein	117	128
aNDF ¹	85	166
ADF ²	48	62
ADL ³	21	29
starch	781	653
crude ash	14	17
ether extract	48	15
UFL ⁴ (in kg of DM)	1.25	1.18
PDIN ⁵ (g/kg of DM)	83	88
PDIE ⁶ (g/kg of DM)	113	102

¹aNDF – neutral detergent fiber determined with heat-stable amylase.

²ADF – acid detergent fiber.

³ADL – acid detergent lignin.

⁴UFL – net energy for lactation (INRA, 2007).

⁵PDIN – true protein absorbable in the small intestine when N is limiting in the rumen (INRA, 2007).

⁶PDIE – true protein absorbable in the small intestine when energy is limiting in the rumen (INRA, 2007).

Table 3. Dry matter and nutrient intake by dairy cows (kg/d per cow)

Item	Diet ¹		Week ²				SEM ³	Effect, P-value		
	M	HR	1	2	3	4		Diet (D)	Week (W)	D × W
	Dry matter	23.32	22.83	22.46	22.66	23.77		23.41	0.210	0.29
Crude protein	3.43	3.36	3.33	3.32	3.49	3.44	0.032	0.26	0.26	0.91
Ether extract	0.84	0.75	0.79	0.78	0.83	0.81	0.011	<0.01	0.30	0.93
Starch	5.55	5.34	5.30	5.85	5.61	5.52	0.053	0.05	0.15	0.79
aNDF ⁴	8.79	9.12	8.71	8.80	9.23	9.09	0.084	0.07	0.18	0.86

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.

²Consecutive weeks of the data collection period.

³Standard error of the mean.

⁴aNDF – neutral detergent fiber determined with heat-stable amylase.

Table 4. Daily milk and solids yield, proximate chemical composition, density and somatic cell count in milk

Item	Diet ¹		Week ²				SEM ³	Effect, P-value		
	M	HR	1	2	3	4		Diet (D)	Week (W)	D × W
	Yield (kg/day per cow)									
milk	28.61	27.26	28.25	27.75	27.53	27.43	0.893	0.32	0.25	0.36
milk 3.5% fat (FCM ⁴)	32.64	31.26	32.61	32.50	31.86	30.82	1.160	0.53	0.07	0.09
total solids	3.85	3.70	3.81	3.80	3.78	3.72	0.134	0.96	0.25	0.84
protein	1.00	0.97	1.00	0.97	0.99	0.97	0.022	0.41	0.40	0.55
fat	1.22	1.21	1.22	1.23	1.19	1.14	0.053	0.63	0.06	0.07
lactose	1.40	1.31	1.37	1.35	1.34	1.34	0.051	0.32	0.44	0.40
Chemical composition										
total solids (%)	13.39	13.65	13.51	13.61	13.43	13.34	0.124	0.19	0.39	0.35
protein (%)	3.52	3.65	3.57	3.56	3.58	3.58	0.062	0.07	0.94	0.26
fat (%)	4.27	4.45	4.32 ab	4.47 a	4.26 ab	4.18 b	0.081	0.14	0.03	0.04
lactose (%)	4.89	4.86	4.87 ab	4.90 a	4.82 b	4.88 ab	0.043	0.65	0.23	0.96
urea (mg/dL)	22.12	22.01	22.71	22.43	21.23	21.88	0.910	0.94	0.40	0.01
somatic cell count (thousand cells/ml)	257.88	316.44	302.44	302.00	258.38	285.81	68.080	0.66	0.41	0.06
LSCC ⁵ (Log value)	2.08	2.34	2.18	2.29	2.16	2.23	0.133	0.31	0.12	0.07
Density (g/L)	1027.89	1027.92	1027.99	1028.01	1027.49	1028.11	0.384	0.95	0.64	0.74
SNF ⁶ (%)	9.24	9.26	9.25	9.28	9.24	9.24	0.058	0.77	0.93	0.32

a, b – P<0.05.

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.²Consecutive weeks of the data collection period.³Standard error of the mean.⁴FCM – Fat-Corrected Milk (FCM (3.5%) = 0.35 M + 18.57 F where M = quantity of milk in kg, F = amount of fat in kg in 'M' quantity of milk).⁵Somatic cell count transformed to a logarithmic scale (LSCC = log_e (somatic cell count × 10³)).⁶Solids not fat.

Table 5. The fatty acid profile (g/100 g FA) of milk fat

Item	Diet ¹		SEM ²	P-value
	M	HR		
C4:0	2.34	2.68	0.689	0.59
C6:0	0.13	0.16	0.005	0.94
C8:0	0.25	0.24	0.004	0.70
C10:0	1.08	0.99	0.010	0.29
C10:1	0.08	0.06	0.003	0.11
C12:0	2.09	2.03	0.009	0.43
C13:0 c	0.02	0.02	0.002	1.00
C14:0	8.41	7.83	0.174	0.09
C14:1	0.28	0.27	0.003	0.36
C15:0	0.79	0.74	0.001	0.24
C16:0 c	0.19	0.18	0.004	0.39
C16:0	30.52	29.53	0.310	0.05
C16:1	2.52	2.76	0.041	0.12
C17:0	0.49	0.49	0.003	1.00
C18:0	9.15	8.71	0.140	0.14
C18:1 t	1.55	1.46	0.031	0.46
C18:1 c	28.61	29.50	0.549	0.14
C18:2	7.13	7.40	1.378	0.76
C20:0	0.09	0.09	0.002	0.56
C20:1	0.04	0.13	0.010	0.28
C18:3	0.31	0.33	0.004	0.56
CLA 9c 11t	1.11	1.29	0.03	0.20
CLA 10t 12c	0.33	0.39	0.028	0.61
Others	2.51	2.76	0.179	0.99
ΣUFA ³	41.95	43.58	1.271	0.09
ΣSFA ⁴	58.05	56.42	1.383	0.07
ΣMUFA ⁵	33.07	34.17	1.662	0.16
ΣPUFA ⁶	8.88	9.41	1.541	0.57
Omega3	0.31	0.33	0.004	0.56
Omega6	7.46	7.79	1.239	0.69
Omega6/omega3	24.06	23.61	30.009	0.90

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.

²Standard error of the mean.

³Sum of unsaturated fatty acids.

⁴Sum of saturated fatty acids.

⁵Sum of monounsaturated fatty acids.

⁶Sum of polyunsaturated fatty acids (C18:2, C18:3 and CLA).

No differences were shown between groups in 3.5% fat corrected milk yield (FCM), as well as total solids and milk component yield. Milk from HR and M groups did not differ in total solids and fat ($P>0.05$) but HR group tended to be higher for protein content ($P=0.07$). Effect of week was significant ($P=0.03$) only for fat content. The level of urea in the milk (22.1 vs. 22.0 mg/dL for M and HR, respectively; treatment \times week interaction $P=0.01$) was within the standard range (Table 4).

The results for the FA profile of milk samples confirmed that the type of diet caused only a minor influence on FA composition of milk fat (Table 5). Milk fat from HR group tended to contain a slightly higher proportion of unsaturated fatty acids (UFA; $P=0.09$) and lower proportion of C14:0 ($P=0.09$) and C16:0 ($P=0.05$). In terms of AA content in milk, no differences or tendencies were found ($P\geq 0.16$; Table 6). Average content of Lys and Met in milk were 2.82 vs. 2.72 g/kg and 0.76 vs. 0.66 for HR and M groups, respectively.

Table 6. Amino acid content in milk (g/kg)

Item	Diet ¹		SEM ²	P-value
	M	HR		
Asp	2.49	2.64	0.059	0.221
Thr	1.40	1.43	0.027	0.658
Ser	1.74	1.74	0.030	0.969
Glu	7.08	7.27	0.152	0.540
Pro	3.21	3.23	0.071	0.891
Gly	0.64	0.64	0.024	0.942
Ala	1.02	1.05	0.027	0.703
Val	2.05	2.14	0.068	0.588
Ile	1.62	1.75	0.051	0.169
Leu	3.29	3.40	0.073	0.481
Tyr	1.54	1.60	0.033	0.422
Phe	1.49	1.56	0.040	0.431
His	0.99	1.07	0.021	0.160
Lys	2.70	2.82	0.036	0.174
Arg	1.11	1.15	0.020	0.237
Cys	0.29	0.32	0.022	0.502
Met	0.66	0.76	0.043	0.183

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.

²Standard error of the mean.

The type of cereal grain significantly influenced the composition of milk protein fractions (Table 7). Milk protein from HR group had higher proportion of α - ($P<0.01$) and κ -casein ($P=0.02$; by 2.7 and 0.88 percentage points for α - and κ -casein, respectively), and a lower proportion of β -casein ($P=0.02$), immunoglobulins ($P<0.01$), and free peptides ($P<0.01$; by 1.1, 0.2, and 0.77 percentage points respectively). In turn,

the composition of the TMR did not affect the technical suitability for processing of milk fat (Table 7). The use of HR positively affected the sensory characteristics of milk, with significant differences in the body and texture ($P=0.03$) and taste ($P=0.01$) as well as the overall assessment ($P=0.02$).

Table 7. Indicators of milk quality and technological suitability for processing

Item	Diet ¹		SEM ²	P-value
	M	HR		
Milk protein fractions (% of total proteins)				
α -casein	37.01	39.71	0.350	<0.01
β -casein	28.83	27.76	0.212	0.02
κ -casein	6.46	7.34	0.161	0.02
β -lactoglobulin	12.01	11.72	0.274	0.47
α -lactalbumin	8.32	7.45	0.300	0.07
immunoglobulins	0.61	0.40	0.013	<0.01
serum albumin	2.27	2.22	0.267	0.89
lactoferrin	2.63	2.31	0.104	0.19
free peptides	1.86	1.09	0.021	<0.01
Milk fat quality parameters for processing				
acid number (mg KOH/100 g fat)	0.57	0.65	0.003	0.14
peroxide number (meq O ₂ /kg fat)	0.34	0.42	0.001	0.21
melting temperature (°C)	34.91	35.16	0.059	0.19
solidification temperature (°C)	20.07	20.08	0.012	0.89
Sensory evaluation of milk (points, 0–5)				
appearance and color	4.84	4.90	0.008	0.29
body and texture	4.93	5.00	0.010	0.03
odor	4.53	4.71	0.021	0.11
taste	4.69	4.90	0.007	0.01
overall score	4.68	4.84	0.009	0.02
Other indicators of milk				
titratable acidity (°SH)	7.13	7.25	0.190	0.70
rennet coagulation time (sec.)	247	230	16.234	0.56
heat stability (min)	6.64	7.30	0.452	0.21

¹Concentrates with M – maize grain or HR – hybrid rye grain.

²Standard error of the mean.

These last parameters were rated higher for HR milk by 0.21, 0.07, and 0.16 points, respectively. There were no treatment differences in RCT, heat stability or titratable acidity.

Discussion

In several Nordic countries, there is a long-standing tradition of rye consumption due to its relatively high concentration of bioactive compounds, such as alkylresorcinols, benzoxazinoids, lignans, phenolic acids, phytosterols and tocopherols, which may have independent or synergistic health effects (Andersson et al., 2014; Koistinen and Hanhineva, 2017). The use of rye grain in livestock nutrition is much less frequent (Pieszka et al., 2015). The main concern in feeding rye grain to animals is its high content of soluble non-starch polysaccharides (mainly arabinoxylans), which increase the viscosity of gastric contents, thus reducing the absorption and bioavailability of nutrients in pigs and poultry (Jürgens et al., 2012; Smit et al., 2019). Compared to wheat, barley or triticale grain, rye grain contains less CP and more dietary fiber (Micek, 2008; Rodehutschord et al., 2016; Krieg et al., 2017). For ruminants, rye has a high metabolizable energy value of 13.1 MJ/kg DM, which is similar to wheat, barley or triticale grain, and higher than oat grain (Denek and Deniz, 2004; Sauvant et al., 2004). In turn, the biological value of rye protein is quite low (Micek, 2008; Rodehutschord et al., 2016) and there is a risk of the appearance of harmful ergot alkaloids (Denek and Deniz, 2004). However, intensive work in rye genetics has focused on the development of new hybrid cultivars with reduced concentrations of antinutrient substances, higher winter hardiness, lower requirements for soil quality, and decreased susceptibility to ergot (Jürgens et al., 2012).

In the present study, feeding dairy cows by substituting maize grain with hybrid rye grain in the concentrate mixture did not cause any major differences in the chemical composition of diets as well as in DM, CP, and aNDF intake. Iso-energy and iso-protein diets were achieved by a 2 percentage point higher proportion of rye and lower proportion of canola cake in the concentrate mixture. Therefore, cows on the M diet had a higher intake of EE and starch due to a higher average DMI, slightly higher content of canola cake, and higher concentration of EE and starch in maize grain compared to rye grain. Compared with the starch in maize grain, rye grain starch is rapidly fermented in the rumen (Micek, 2008; Benninghoff and Paschke-Beese, 2015; Krieg et al., 2017; Rajtar et al., 2020) which may increase the risk of ruminal acidosis (Plaizier et al., 2009). On the other hand, when lactating dairy cows are fed grain containing slowly degradable starch, such as maize, substantial quantities of starch may escape from rumen fermentation thereby limiting microbial protein synthesis and the amount of protein available to the animal (Mills et al., 1999). The capacity of the rumen microorganisms to ferment starch at different rates from different grains (e.g. barley vs. maize) leads to scientific literature reporting varied DMI and milk yield responses (Micek, 2008; Kargar and Ghorbani, 2014). Casper and Schingoethe (1990) reported greater milk yields for cows fed maize grain as compared with cows fed barley grain. In contrast, Kargar and Ghorbani (2014) demonstrated that changing diet DM fermentability by replacing barley grain for maize grain did not affect feed intake or milk yield. However, milk fat yield tended to show a linear increase with increasing maize grain inclusion in the diet. Many other studies have also shown that milk yield is not affected by the type of grain or the amount of ruminally degradable starch (Oliveira et al., 1993; Slots et al.,

2009). In fact, the effects of wheat, barley or maize grain utilization in diets for dairy cows have been widely investigated, but in the scientific literature there are only a few studies on the utilization of rye grain (Sharma et al., 1981, 1983; Südekum and Brandt, 1994; Pieszka et al., 2015), especially using hybrid rye grain, as a substitute for maize grain.

In our research, there was no difference in DMI between the HR and M group which is supported by other studies that concluded the palatability of rye is similar to other cereal grains for dairy cows (Sharma et al., 1983; Pieszka et al., 2015). In contrast, some studies reported a negative impact of rye grain use in the diet for ruminants on DMI, but those studies used a higher inclusion of rye in the ration. For example, in the study of Sharma et al. (1981) twelve lactating Holstein cows were fed four diets containing 0, 25, 50, and 75% rolled rye within the grain mixture with grass silage in a switch back design. Replacement of barley with rye in the grain mixture reduced DMI, with little effect on average daily milk production. Moreover, our study, along with others (Sharma et al., 1983; Pieszka et al., 2015), showed that replacement of crushed barley, wheat or maize grain by rye grain in dairy cow concentrate mixtures did not reduce feed intake, milk yield, and milk composition. Kirilov et al. (1994) found no reduction in milk yield compared to the control group fed crushed barley in diets containing 20, 40 or 50% rye grain in the concentrate mixture. However, although not significant, our research demonstrated numerically lower values of milk production for HR compared to M group by 1.35 kg/day as well as higher milk protein concentration by 0.13%. Part of the reason for this may be due to the fact that the M treatment cows had numerically higher DM intake and significantly higher starch and crude fat intake from HR. Also, based on previous research (Micek, 2008), we can speculate that the utilization of maize starch was better at providing energy for milk production when digested in the small intestine since it is a slower rumen degrading starch source which contains a higher proportion of bypass starch. On the other hand, the rye starch, having higher rumen degradability, may have provided more energy to rumen microbes for higher microbial synthesis which contributed to higher milk protein concentration. Of course, a dilution effect cannot be completely ignored when a higher content of protein in milk was observed with overall lower milk yield in the HR group. However, Kraszewski and Kozłowski (2000), in an experiment feeding dairy cows with concentrate mixtures containing 50% rye grain, showed a significant decrease in milk yield and milk fat quality due to a higher proportion of saturated fatty acids, compared to a control group fed barley grain.

The results obtained in our study did not indicate differences in milk fat indices when cows were fed HR. To the contrary, the trends of a lower proportion of myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acid in milk fat in this study may be considered beneficial. It should also be noted that the content of other fatty acids, which are considered as health promoting, such as linoleic (C18:2) and linolenic (C18:3) acid, were nearly identical in both groups. Pieszka et al. (2015) reported higher levels of MUFA and PUFA in milk fat when cows were fed with hybrid rye grain but in our study only a tendency for higher UFA levels was observed. Although none of these numbers from the HR group were significant on their own, all of them taken together point

toward a milk product that is preferable from a consumer perspective, having lower saturated and higher unsaturated fatty acids.

Although the type of grain did not significantly influence the AA content in the milk, important variation in the composition of milk protein fractions from the HR group was observed. We assume that this situation is not unusual, because total content of AA in the milk (g/kg) comes from different milk protein fractions, expressed in this research as % of total proteins. Thus, the overall AA content in the milk may show no differences, despite the differences demonstrated in the composition of individual milk protein fractions. This effect may be related to modified microbial protein synthesis in the rumen as a result of fermentation processes modulated by different starch properties (Micek, 2008). Regardless of that, milk protein from the HR group was characterized by a higher proportion of α - and κ -casein fractions and a lower proportion of β -casein, immunoglobulins, and peptides. Casein, as the main component of the curd, has a major impact on cheese production efficiency. Therefore, it is worth mentioning the 2.5 percentage points higher ($P < 0.05$) total casein concentration in the milk protein from the HR group (data not shown). According to Cipolat-Gotet and Cecchinato (2018), the efficiency of cheese DM yield is positively associated with the amounts of α s1- and κ -casein, due to the strong influence of both fractions on the recovery rate of protein and fat from the curd. As a consequence, it can be assumed that the composition of protein fractions of milk from cows fed rye grain will probably have a beneficial effect on cheese production.

In turn, the type of grain did not affect technological suitability for processing of milk fat. The lack of differences between M and HR in the acid and peroxide numbers indicate no differences between lipolytic and oxidative changes of fat and its potential storage stability. As for the solidification and melting temperature of the milk, there were also no treatment differences, indicating similar processing capabilities. The solidification and melting temperature of milk fat are influenced mainly by the fatty acid composition of the triacylglycerols. As milk fat contains a large number of different types of triacylglycerols, which vary considerably in molecular weight and degree of unsaturation, its melting point shows wide temperature ranges from -35 to $+40^\circ\text{C}$ (Taylor and MacGibbon, 2003). The values of both parameters for milk fat vary between 19 – 24°C and 31 – 40°C , respectively (Ziajka, 2008), and obtained results are consistent with the above data. Although there were tendencies for different degrees of unsaturation between the two treatments, this had no effect on the solidification and melting temperature of the milk fat. Thus, small differences in FA composition between treatments (only 1.63 percentage points for UFA) did not translate into changes in milk fat quality parameters for processing.

The composition of the ration fed to cows is one of the main factors that can significantly affect the sensory properties of milk. This is mainly due to the fact that some chemical compounds, especially volatile ones, contained in the feeds may enter the milk, affecting its smell and flavor (Schiano et al., 2017). Feeding cows with rye grain positively affected the sensory characteristics of milk, with significant differences in the individual parameters as well as in the overall assessment, although this effect is not clear and is difficult to explain. The rennet coagulation time and milk heat stability are the parameters of the processing suitability of milk for the

production of cheeses and high-temperature milk products (such as UHT milk), respectively. The main impact on these characteristics of milk comes from protein and mineral content and their composition, as well as from acidity. Despite the differences in the composition of protein fractions between the tested milk types, they did not differ significantly in either rennet coagulation time, heat stability or titratable acidity. It can, however, be assumed that the tendency of longer heat stability time and shorter rennet coagulation time for HR was associated with a higher proportion of casein, including its κ fraction. Due to its strong hydrophilic properties, the κ fraction of casein has a major influence on the stability of the colloidal system of milk proteins (Horne and Banks, 2004).

Future research will need to evaluate any differences in actual technological suitability of milk for processing from cows fed rye or maize grain. Although the current study indicates no, or only slight, differences in this respect, more studies are needed. Also, the use of alternative grain source, such as rye, should be evaluated not only for mid-lactation cows, but also for other lactation stages. With a numerical decrease in milk yield for cows fed concentrate containing hybrid rye grain, the potential for feeding high producing dairy cows will have to be carefully evaluated. And lastly, using different combinations of rye grain with other grain species or other roughages in the basal diet should also be researched.

In conclusions, the use of HR as a substitute for M in the diet of mid-lactating dairy cows did not cause a dramatic decrease in DMI or significant reduction in quality of milk or milk products. To the contrary, milk from cows fed rye grain tended to have higher milk protein concentrations and a higher proportion of unsaturated fatty acids. Additionally, milk from the HR group was characterized by higher total casein proportion in milk protein by 2.5 percentage points and higher scores in milk sensory indices, without any negative effect on the quality and technological suitability for processing of milk fat. However, compared to maize grain, concentrates containing rye grain have a much lower potential of milk synthesis, which could significantly limit milk yield in high producing dairy cows.

In summary, this study has shown that hybrid rye grain could be an alternative for maize grain in a diet based on grass silage and whole crop maize silage for mid-lactation dairy cows, with the potential of decreasing milk yield but improving some milk quality characteristics. Further research is needed to determine the effect of hybrid rye grain concentrate mixtures fed to dairy cows in combination with other cereal grain species, as a higher proportion in the diet or with other roughages used in a basal diet.

Acknowledgements

The authors acknowledge the staff of Kosowo Farm of the Institute of Genetics and Animal Breeding Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec, for their help in conducting the study and collecting the data.

References

- Andersson A.A.M., Dimberg L., Åman P., Landberg R. (2014). Recent findings on certain bioactive components in whole grain wheat and rye. *J. Cereal Sci.*, 59: 294–311.
- AOAC (2005). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18th Ed. AOAC International, Washington, DC.
- Benninghoff J., Paschke-Beese M. (2015). *In situ* and *in vitro* ruminal degradation of maize grain and untreated or xylose-treated wheat, barley and rye grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 210: 86–93.
- Casper P., Schingoethe D.J. (1990). Response of early lactation dairy cows fed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein. *J. Dairy Sci.*, 73: 1039–1050.
- Cipolat-Gotet C., Cecchinato A. (2018). Variations in milk protein fractions affect the efficiency of the cheese-making process. *J. Dairy Sci.*, 101: 8788–8804.
- Crowley S.V., Dowling A.P. (2016). Impact of α -lactalbumin: β -lactoglobulin ratio on the heat stability of model infant milk formula protein systems. *Food Chem.*, 194: 184–190.
- Denek N., Deniz S. (2004). The determination of energy levels in some cereal grains used in ruminant diets by *in vivo* and *in vitro* methods. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28: 185–193.
- Faisant N., Planchot V., Kozłowski F., Pacourent M.P., Colonna P., Champ M. (1995). Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. *Sci. Alim.*, 15: 83–89.
- Folch J., Lees M. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497–509.
- Grenier B., Oswald I.P. (2011). Mycotoxin co-contamination of food and feed: Meta-analysis of publications describing toxicological interactions. *World Mycotoxin J.*, 11: 285–313.
- Horne D.S., Banks J.M. (2004). Rennet-induced coagulation of milk. In: *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M.C., Guinee T.P. (eds). Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 47–70.
- INRA (2007). Alimentation des bovins, ovins et caprins: Besoins des animaux – Valeurs des aliments. Editions Quae, Versailles, France, 2007.
- ISO 4121:2003 (2003). Sensory analysis – guidelines for the use of quantitative response scales.
- Jürgens H.U., Jansen G., Wegener C.B. (2012). Characterisation of several rye cultivars with respect to arabinoxylans and extract viscosity. *J. Agric. Sci.*, 5: 1–12.
- Kargar S., Ghorbani G.R. (2014). Reciprocal combinations of barley and corn grains in oil-supplemented diets: Feeding behavior and milk yield of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 97: 7001–7011.
- Kirilov M.P., Kumarin S.V., Ilyukhina L.A., Golovin A.V., Udalova E.V. (1994). Rye in feed mixtures. *Životnovodstvo*, 33: 16–18.
- Koistinen V.M., Hanhineva K. (2017). Microbial and endogenous metabolic conversions of rye phytochemicals. *Molec. Nutr. Food Res.*, 61: 7.
- Kraszewski J., Kozłowski J. (2000). Effect of feeding ground rye in feed rations for cows on the nutritional value of milk and butter (in Polish). *Rocz. Nauk. Zoot.*, Supp. 6: 62–72.
- Krieg J., Siegfried N., Steingass H., Rodehutscord M. (2017). *In situ* and *in vitro* ruminal starch degradation of grains from different rye, triticale and barley genotypes. *Animal*, 11: 1745–1753.
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680–685.
- Micek P. (2008). Nutritional usefulness to ruminants of grain of Polish cereal species and cultivars (in Polish). *Zesz. Nauk. UR Kraków*, 449: 1–127.
- Mills J.A.N., France J., Dijkstra J. (1999). A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model. 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. *J. Anim. Feed Sci.*, 8: 291–340.
- Oliveira J.S., Huber J.T., Ben-Ghedalia D., Swingle R.S., Theurer C.B., Pesarakli M. (1993). Influence of sorghum grain processing on performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76: 575–581.
- Petr J., Mikišik V. (2006). Rye quality of hybrid and population varieties from intensive and ecological conditions. *Sci. Agric. Bohem.*, 37: 1–8.

- Pieszka M., Kamyczek M., Rudzki B., Łopuszańska-Rusek M., Pieszka M. (2015). Evaluation of the usefulness of hybrid rye in feeding Polish Holstein-Friesian dairy cows in early lactation. *Ann. Anim. Sci.*, 15: 929–943.
- Plaizier J.C., Krause D.O., Gozho G.N., McBride B.W. (2009). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.*, 176: 21–31.
- PN-A-86927 (1961). Edible vegetable fats – Determination of crystallization temperature. Polish Official Standard (in Polish).
- PN-EN ISO 6321:2004 (2004). Animal and vegetable fats and oils – Determination of melting point in open capillary tubes (slip point). Polish Official Standard (in Polish).
- PN-EN ISO 660:2010 (2010). Animal and vegetable fats and oils – Determination of acid value and acidity. Polish Official Standard (in Polish).
- PN-ISO 3976:2014-11 (2014). Milk fat – Determination of peroxide value. Polish Official Standard (in Polish).
- PN-ISO 3972:2016-07 (2016). Sensory analysis – Methodology – Method of investigating sensitivity of taste. Polish Normalization Committee (in Polish).
- Rajtar P., Górka P., Schwarz T., Micek P. (2020). Effect of hybrid rye and maize grain processing on ruminal and postruminal digestibility parameters. *Ann. Anim. Sci.*, 20: 1065–1083.
- Robertson J.B., Van Soest P.J. (1981). The detergent system analysis and its application to human foods. In: *The Analysis of Dietary Fiber in Food*, Theander J. (ed.). Dekker INC, pp. 123–157.
- Rodehutschord M., Rückert C., Maurer H.P., Schenkel H., Schipprack W., Bach Knudsen K.E., Schollenberger M., Laux M., Eklund M., Siegert W. (2016). Variation in chemical composition and physical characteristics of cereal grains from different genotypes. *Arch. Anim. Nutr.*, 70: 87–107.
- Sauvant D., Perez J.M., Tran G. (2004). Tables INRA-AFZ de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition. INRA Editions, Versailles France.
- Schiano A.N., Harwood W.S., Drake M.A. (2017). A 100-year review: Sensory analysis of milk. *J. Dairy Sci.*, 100: 9966–9986.
- Sharma H.R., Ingalls J.H., McKirdy J.A., Sanford L.M. (1981). Evaluation of rye grain in the diets of young Holstein calves and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 64: 441–448.
- Sharma H.R., Ingalls J.R., McKirdy J.A. (1983). Feeding value of alkali-treated whole rye (*Secale cereale* L.) grain for lactating cows and its digestibility for sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 10: 77–82.
- Slots T., Butler G., Leifert C., Kristensen T., Skibsted L.H., Nielsen J.H. (2009). Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *J. Dairy Sci.*, 92: 2057–2066.
- Smit M.N., Zhou X., Landero J.L., Young M.G., Beltranena E. (2019). Increasing hybrid rye level substituting wheat grain with or without enzyme on growth performance and carcass traits of growing-finishing barrows and gilts. *Tran. Anim. Sci.*, 3: 1561–1574.
- Südekum K.H., Brandt M. (1994). Site and extent of cell-wall neutral monosaccharide digestion in dairy cows receiving diets with rolled cereal grains. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 46: 307–320.
- Taylor M.W., MacGibbon A.K.H. (2003). Lipids. General characteristics. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Roginski H., Fuquay J.W., Fox P.F. (eds). Academic Press, London, UK, pp. 1544–1550.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583–3597.
- Ziajka S. (2008). *Dairying* (in Polish). UWM, Olsztyn, Poland.

Received: 21 II 2020

Accepted: 20 I 2021