



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach



# Praca Doktorska

mgr inż. Michał Gąsiorek

**Wpływ dodatku paszy strukturalnej na wyniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz wskaźniki biochemiczne krwi cieląt w okresie podawania pasz płynnych**

Dziedzina: Nauki rolnicze

Dyscyplina: Zootechnika i rybactwo

**Praca doktorska  
wykonana w Katedrze Żywienia  
Zwierząt  
Uniwersytetu Przyrodniczego  
w Poznaniu  
pod kierunkiem Promotora  
Dr hab. Barbary Stefańskiej**

Poznań, 2025

## Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu monotematycznego

Podstawą niniejszej dysertacji doktorskiej są wyniki badań własnych, przedstawionych w formie **dwóch publikacji oryginalnych**:

1. **Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, J. Komisarek, and W. Nowak.** 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre- and post-weaning periods. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl)* 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.  
IF<sub>2022</sub>: 2,700; IF<sub>5-letni</sub>: 2,600; liczba pkt. MNiSW = 100 pkt.
2. **Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, M. Taciak, J. Komisarek, and W. Nowak.** 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.  
IF<sub>2020</sub>: 3,240; IF<sub>5-letni</sub>: 3,223; liczba pkt. MNiSW = 200 pkt.

**Sumaryczny IF = 5,940**

**Sumaryczny IF<sub>5-letni</sub> = 5,823**

**Sumaryczna liczba punktów MNiSW = 300 pkt.**

Wartość wskaźnika IF publikacji podano według listy Journal of Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania każdego artykułu naukowego. Liczbę punktów MNiSW podano zgodnie z ostatnim wykazem czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

*Składam serdeczne wyrazy wdzięczności  
Szanownej Pani Promotor dr hab. Barbarze Stefańskiej  
za poświęcony czas, dzielenie się swoją wiedzą  
i doświadczeniem oraz bezcenne wskazówki udzielone  
w trakcie realizacji badań i przygotowaniu dysertacji  
doktorskiej*

*Składam serdeczne podziękowania  
Szanownemu Panu Prof. dr hab. Włodzimierzowi Nowakowi  
za nieocenione wsparcie w realizacji badań w ramach  
pracy doktorskiej*

*Składam najserdeczniejsze podziękowania  
Moim Rodzicom  
za inspiracje do odkrywania nowych horyzontów  
życiowych*

*Pracę doktorską dedykuję wybitnemu hodowcy bydła mlecznego  
oraz przede wszystkim wspaniałemu człowiekowi  
ŚP. Łukaszowi Lewiczowi.  
Nasze długie i bezcenne rozmowy pozostaną na zawsze  
w moim sercu*

## SPIS TREŚCI

<b>SPIS SKRÓTÓW.....</b>	<b>9</b>
<b>STRESZCZENIE.....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>13</b>
<b>1. WSTĘP.....</b>	<b>15</b>
<b>2. HIPOTEZA BADAWCZA.....</b>	<b>27</b>
<b>3. CEL BADAŃ.....</b>	<b>28</b>
<b>4. MATERIAŁY I METODY.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Charakterystyka pierwszego zadania badawczego.....</b>	<b>29</b>
4.1.1 Materiał doświadczalny.....	29
4.1.2 Żywienie cieląt paszami płynnymi i stałymi.....	29
<b>4.2 Metody badawcze.....</b>	<b>31</b>
4.2.1 Wskaźniki produkcyjne.....	31
4.2.2 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych oraz mikrobiologicznych w płynie żwacza.....	32
4.2.3 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w próbach krwi.....	32
<b>4.3 Analiza statystyczna.....</b>	<b>34</b>
<b>4.4 Charakterystyka drugiego zadania badawczego.....</b>	<b>36</b>
4.4.1 Materiał doświadczalny.....	36
4.4.2 Żywienie cieląt paszami płynnymi i stałymi.....	36
<b>4.5 Metody badawcze.....</b>	<b>37</b>
4.5.1 Wskaźniki produkcyjne.....	37
4.5.2 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w płynie żwacza.....	37
4.5.3 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w próbach krwi.....	37
<b>4.6 Analiza statystyczna.....</b>	<b>39</b>
<b>5. WYNIKI.....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 Określenie wpływu podawania słomy pszenżytniej jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi.....</b>	<b>41</b>

5.1.1 Rozkład frakcji cząstek o zróżnicowanej długości mieszanek treściwych starter i niedojadów oraz indeks sortowania.....	41
5.1.2 Pobranie mieszanki treściwej starter oraz wyniki produkcyjne.....	42
5.1.3 Przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz status metaboliczny cieląt.....	42
<b>5.2 Zbadanie zależności pomiędzy metodą podawania siczki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz statusem metabolicznym cieląt.....</b>	<b>44</b>
5.2.1 Pobranie mieszanki treściwej starter oraz wyniki produkcyjne.....	44
5.2.2 Przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz status metaboliczny cieląt.....	44
<b>6. DYSKUSJA.....</b>	<b>46</b>
<b>6.1 Określenie wpływu podawania słomy pszenżytniej jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi.....</b>	<b>47</b>
<b>6.2 Zbadanie zależności pomiędzy metodą podawania siczki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz statusem metabolicznym cieląt.....</b>	<b>52</b>
<b>7. STWIERDZENIA I WNIOSKI.....</b>	<b>57</b>
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>58</b>

## Spis skrótów

### Wykaz skrótów polskojęzycznych:

BC – białko całkowite

BO – białko ogólne

IgG – przeciwciała, immunoglobuliny G

LKT – lotne kwasy tłuszczowe

KON – grupa doświadczalna, kontrola

PFHBiPM – Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka

SM – sucha masa

TS – tłuszcz surowy

UE – Unia Europejska

WKT – wolne kwasy tłuszczowe

### Wykaz skrótów angielskich:

ADF – *acid detergent fiber*, kwaśne włókno detergentowe

ADG – *average daily gain*, średni dzienny przyrost masy ciała

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*, towarzystwo chemiczne sprawujące nadzór nad normami analiz chemicznych

BHBA – *β-hydroxybutyrate*, β-hydroksymaślan

BUN – *blood urea nitrogen*, azot mocznikowy we krwi

BW – *body weight*, masa ciała

DM – *dry matter*, sucha masa

DMI – *dry matter intake*, pobranie suchej masy

FE – *feed efficiency*, współczynnik wykorzystania paszy

FC – *free choice*, grupa doświadczalna, mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki siana z owsa oraz siewczka siana z owsa podawane osobno *ad libitum*

HH – *hip height*, wysokość w krzyżu

HG – *heart girth*, obwód klatki piersiowej

HS – *high straw*, grupa doświadczalna, 20% udział siewczki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter

IGF-I – *insulin-like growth factor I*, insulinopodobny czynnik wzrostu I

IS – *internal standard*, standard wewnętrzny

LS – *low straw*, grupa doświadczalna, 10% udział siewki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter

MCT1 – *monocarboxylate transporter 1*, transporter monokarboksyłowy 1

MS – *medium straw*, grupa doświadczalna, 15% udział siewki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter

NDF – *neutral detergent fiber*, neutralne włókno detergentowe

NEFA – *nonestrified fatty acids*, wolne kwasy tłuszczowe

NFC – *non-fiber carbohydrates*, węglowodany niestrukturalne

NRC – *National Research Council*, Narodowa Rada Badań Naukowych

OH – *oat hay*, grupa doświadczalna, mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewki siana z owsa

OH-FC – *oat hay and free choice*, grupa doświadczalna, mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewki siana z owsa oraz siewka siana z owsa podawane osobno *ad libitum*

PSPS – *Penn State Particle Separator*, sita paszowe

SI – *sorting index*, indeks sortowania

TDMI – *total dry matter intake*, całkowite spożycie suchej masy

TMR – *total mixed ration*, dawka kompletna

## Streszczenie

Przedmiotem dysertacji doktorskiej było określenie wpływu paszy strukturalnej jako komponentu mieszanki treściwej starter oraz metody jej podawania na wskaźniki produkcyjne, fermentację w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi cieląt w pierwszym okresie odchowu. W celu weryfikacji hipotez badawczych sformułowano dwa zadania badawcze.

W pierwszym zadaniu badawczym podjęto próbę określenia wpływu podawania słomy pszenżytniej, jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w okresie podawania pasz płynnych, na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi. Grupy doświadczalne wyznaczone na podstawie różnego udziału siewczki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter były następujące: kontrola, mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki ze słomy (KON, n = 11), 10% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej starter (LS, n = 11), 15% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej starter (MS, n = 11) oraz 20% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej typu starter (HS, n = 11). W badaniach własnych stwierdzono, że podawanie mieszanki treściwej starter zawierającej 10% siewczki słomy z pszenżyta wpłynęło pozytywnie na wyniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz koncentrację  $\beta$ -hydroksymaślanu we krwi cieląt w okresie podawania pasz płynnych. Z drugiej strony podawanie mieszanki treściwej starter zawierającej 20% siewczki słomy z pszenżyta wpłynęło negatywnie na wyniki produkcyjne cieląt w pierwszym okresie odchowu.

W drugim zadaniu badawczym podjęto próbę zbadania zależności pomiędzy metodą podawania siewczki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźnikami biochemicznymi krwi cieląt. Grupy doświadczalne wyznaczone na podstawie metody podawania siewczki siana z owsa były następujące: kontrola, mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki siana z owsa, (KON, n = 10), mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewczki siana z owsa (OH, n = 10), mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewczki siana z owsa oraz siewczka siana z owsa podawana *ad libitum* (OH + FC, n = 10) oraz mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki siana z owsa oraz siewczka siana z owsa podawane osobno *ad libitum* (FC, n = 10). W badaniach własnych wykazano, że metoda podawania siewczki siana z owsa nie wpłynęła na analizowane wskaźniki produkcyjne cieląt w pierwszym okresie odchowu.

Z drugiej strony, podawanie siewki siana z owsa razem z mieszanką treściwą starter spowodowało korzystne zmiany w przebiegu fermentacji w żwaczu, co wpłynęło pozytywnie na spożycie paszy stałej po zakończeniu podawania pasz płynnych. Na podstawie wyników badań własnych można stwierdzić, że podawanie siewki siana z owsa razem z mieszanką treściwą starter wydaje się być lepszą metodą podania paszy strukturalnej w pierwszym okresie odchowu w porównaniu do podawania obu pasz stałych osobno.

## **Abstract**

The study aimed to investigate the effect of the inclusion of forage into a diet with pelleted starter feed and methods of its provision on starter intake, growth performance, ruminal fermentation, and biochemical blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. The studies were performed in two research tasks.

The first study task attempted to determine the effect of feeding chopped triticale straw into a diet with pelleted starter feed on starter intake, growth performance, ruminal fermentation, and biochemical blood indices of dairy calves during preweaning and postweaning periods. At birth 44 female Polish Holstein-Friesian female dairy calves were randomly assigned to four treatments: control, starter without straw (CON, n = 11), low straw, starter feed containing 10% dry matter basis straw (LS, n = 11), medium straw, starter feed containing 15% dry matter basis straw (MS, n = 11) and high straw, starter feed containing 20% dry matter basis straw (HS, n = 11). In the current study, it was found that feeding dairy calves a starter feed containing 10% chopped triticale straw positively affected starter intake, growth performance, ruminal fermentation, and blood  $\beta$ -hydroxybutyrate concentration during the rearing period. On the other hand, providing a starter feed containing 20% of chopped triticale straw had a negative impact on dairy calves' performance during the rearing period.

The second study task attempted to evaluate the effects of methods of oat hay provision on growth performance, rumen fermentation, and biochemical blood indices of dairy calves during preweaning and postweaning periods. At birth, 40 female Polish Holstein-Friesian calves were randomly assigned to four treatment groups differing in the access to chopped oat hay: control, starter without oat hay (CON, n = 10), starter feed containing 10% DM basis oat hay (OH, n = 10), starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different buckets (OH-FC, n = 10) and starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different buckets (FC, n = 10). The current study found that the method of providing chopped oat hay as a forage source did not affect the starter intake and growth performance of dairy calves during the rearing period. On the other hand, results of this study showed that starter feed containing chopped oat hay improves rumen fermentation, which might allow positive effects on solid feed intake in the postweaning period and a successful transition from preruminant to mature ruminant state. Also, providing chopped oat hay

together with pelleted starter feed seems to be a better method than free-choice supplementation.

## 1. Wstęp

W okresie ostatnich kilkudziesięciu lat zarówno w Polskiej jak i światowej hodowli bydła mlecznego prowadzono intensywną pracę hodowlaną jednostronnie skierowaną przede wszystkim na poprawę wyników produkcyjnych. Dynamiczny postęp genetyczny związany ze wzrostem wydajności zwierząt jest szczególnie widoczny w ostatnich 20 latach – zwiększenie produkcji mleka w laktacji o ponad 4000 kg mleka (PFHBiPM, 2025). Aktualna średnia wydajność krów mlecznych objętych rutynową kontrolą oceny użytkowości mlecznej w naszym kraju wynosi 9611 kg mleka o średniej zawartości tłuszczu i białka odpowiednio 4,03% i 3,51% (PFHBiPM, 2025). Jednakże poprawie potencjału genetycznego zwierząt towarzyszy dynamiczny wzrost zapotrzebowania na składniki pokarmowe (energia i białko) lawinowo rosnący wraz z wydajnością oraz coraz większe trudności w ich zaspokojeniu. W praktyce, pomimo wsparcia w ostatnich latach selekcji genetycznej również oceną genomową ukierunkowaną przede wszystkim na cechy funkcjonalne, nowych metod diagnostycznych, technik terapii weterynaryjnej i coraz bardziej precyzyjnymi narzędziami zarządzania stadem, uzyskany znaczny postęp genetyczny zwierząt spowodował zwiększenie częstotliwości występowania chorób metabolicznych, szczególnie w newralgicznym okresie przejściowym obejmującym ostatnie 2-3 tygodnie ciąży (*ang. close-up*) i pierwszy miesiąc laktacji (*ang. fresh*) oraz pogorszenie wskaźników płodności (Mantysaari i in., 2022, Vossebeld i in., 2022). Kompilacja powyższych negatywnych skutków postępu hodowlanego jest główną przyczyną skrócenia użytkowania krów mlecznych o najwyższym potencjale genetycznym, generując tym samym znaczne straty ekonomiczne dla hodowcy.

Poziom brakowania w stadach bydła mlecznego wynikający ze skrócenia długowieczności krów jest głównym powodem dużego zapotrzebowania na żeński materiał hodowlany. Z tego powodu intensyfikacja odchowu cieląt w okresie żywienia paszami płynnymi oraz nieustanne doskonalenie modelu odchowu jałówek stanowią, obok żywienia krów mlecznych w newralgicznym okresie przejściowym, główny kierunek zainteresowania; zarówno w obszarze badań naukowych jak i prowadzonych obserwacji w praktyce. Podejmowane działania mają na celu przede wszystkim skrócenie okresu nieprodukcyjnego zwierząt poprzez przyspieszenie terminu wykonania pierwszego zabiegu inseminacji oraz skorelowanego z nim wieku wycielenia przy jednoczesnej optymalizacji tempa wzrostu somatycznego, wyników produkcyjnych

i długowieczności (Stefanska i in., 2021a; van Niekerk, 2021; Leal i in., 2025 a; b). Jednakże nadal w naszym kraju ten kluczowy element chowu bydła o mlecznym kierunku użytkowania stanowi jedną z największych rezerw ekonomicznych. Potwierdzeniem tego stwierdzenia są straty ekonomiczne wynikające choćby ze zbyt późnego terminu pierwszego wycielenia jałówek rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej wynoszące aktualnie 801 dni (około 26 miesięcy; PFHBiPM, 2025), które liczbowo są liczone w dziesiątkach milionów złotych rocznie. Z drugiej strony, pomimo intensyfikacji badań związanych z doskonaleniem zarówno żywienia, jak i rozwoju cieląt, na przestrzeni ostatnich dwudziestu lat (Heinrichs i in., 2017, Kertz i in., 2017) wykazano, że nawet 20% urodzonych cieliczek nie osiąga wieku pierwszego wycielenia (De Vries and Marcondes, 2020), co również potwierdza, że aktualna wiedza z tego zakresu jest niewystarczająca. Nadal wiele ważnych pytań pozostaje bez odpowiedzi, a do tych o kluczowym znaczeniu należy zaliczyć wątpliwości dotyczące rekomendowanego modelu podawania pasz płynnych w tym siary (Wang i in., 2025) i preparatu mlekozastępczego (Azevedo i in., 2023, Welk i in., 2023, Wilms i in., 2024) oraz stosowania pasz stałych w tym mieszanki treściwej starter i pasz strukturalnych stymulujących rozwój ilościowy i jakościowy układu pokarmowego w tym komory czepcowo-żwaczowej (Quigley, 2024). Doskonalenie wymienionych elementów żywieniowych jest ważne z punktu widzenia optymalizacji tempa wzrostu zarówno w okresach odpowiednio pierwszych ośmiu tygodni życia jak i krytycznym do wieku wykonania pierwszego zabiegu inseminacji (Stefanska i in., 2021a).

Niewątpliwie odchów cieląt jest bardzo trudny, wymaga nieustannego doskonalenia i elastyczności w adaptacji nowych rozwiązań do specyficznych warunków każdego stada. Wzrost i rozwój cieląt w początkowym etapie życia jest złożonym procesem będącym wypadkową genotypu zwierzęcia i czynników środowiskowych. Pierwszym, kluczowym elementem determinującym przebieg początkowych tygodni życia w tym zdrowotność a zarazem minimalizację poziomu śmiertelności jest nabycie przez zwierzęta swoistej odporności biernej. Specyficzna budowa łożyska przeżuwaczy uniemożliwia transfer przeciwciał pomiędzy organizmem krowy - matki, a płodem w prenatalnym okresie rozwoju. Organizm noworodka rozpoczyna sekrecję przeciwciał w trzydziestej szóstej godzinie życia, jednakże efektywność tego procesu pozwalająca na skuteczną odpowiedź immunologiczną i tym samym ochronę przed patogenami środowiskowymi, osiągnana jest dopiero po

pierwszych dwóch tygodniach życia. Z tego względu w tym okresie obserwujemy nasilenie częstotliwości występowania biegunek wywoływanych zarówno przez czynniki niezakaźne, jak i zakaźne, do których zalicza się przede wszystkim enteropatogeny, takie jak: wirusy (rota- i koronawirusy), bakterie (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*) oraz pasożyty (*Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis*) i innych towarzyszących na skutek obniżonej odporności w tym infekcje układu oddechowego (Stefańska i in., 2021b; Stefańska i in., 2022). Dlatego właściwe zarządzanie modelem odpoju siarą wpływa na efektywność transferu biernego przeciwciał z układu pokarmowego do krwi noworodka, a tym samym uzyskanie odpowiedniej odporności siarowej determinującej zdrowotność zwierząt szczególnie w pierwszym okresie odchowu. Czynniki determinującymi produkcję i jakość siary, które należy brać pod uwagę podczas optymalizacji modelu zarządzania podawaniem tej paszy płynnej są między innymi sezon wycielenia, występowanie stresu cieplnego, długość okresu zasuszenia, numer laktacji, kondycja ciała i status metaboliczny krowy – matki, okres od wycielenia do pierwszego doju oraz objętość siary pozyskana podczas pierwszego doju (Kessler i in., 2020; Costa i in., 2021; Stefańska i in., 2021a; Javani i in., 2023). Dlatego w postępowaniu z nowo narodzonymi cielętami ważnym elementem jest podanie doskonałej jakości siary (>50 IgG g/L, gęstość właściwa >1,060 mg/mL) w ilości nie mniejszej niż 10 % urodzeniowej masy ciała (4–4,5 L) w pierwszej dobie życia (dobowa dawka najpóźniej <12 h; im wcześniej tym lepiej). Właściwy odpój siarą wpływa na efektywność transferu biernego przeciwciał z układu pokarmowego do krwi noworodka, a tym samym uzyskanie odpowiedniej odporności siarowej determinującej zdrowotność zwierząt (Stefańska i in., 2021a). Ponadto, siara oprócz immunoglobulin zawiera również hormony i czynniki wzrostu, które pozytywnie wpływają na rozwój układu pokarmowego oraz sekrecję enzymów trawiennych. Dlatego coraz częściej podkreśla się również pośredni, następczy wpływ statusu immunologicznego w pierwszych dniach życia, nie tylko na zdrowotność cieląt i poziom brakowania podczas odchowu jałówek, ale także na późniejsze wyniki produkcyjne pierwiastek (Stefańska i in., 2021a).

Kolejnym ważnym elementem w pierwszym okresie odchowu cieląt jest optymalizacja modelu żywienia zarówno preparatem mlekozastępczym (lub mlekiem pełnym) jak i mieszanką treściwą typu starter. Synergizm obu elementów dawki wpływa bezpośrednio na rozwój ilościowy i jakościowy układu pokarmowego, w tym

kluczowej z punktu wykorzystywania pasz stałych komory czepcowo-żwaczowej oraz średnie dobowe przyrosty masy ciała (*ang. average daily gain; ADG*) nie tylko w pierwszych ośmiu tygodniach życia, ale również w późniejszych etapach odchowu. W początkowym okresie życia dominującą komorą żołądka jest trawieniec. Z tego względu podstawowy element dawki pokarmowej stanowią pasze płynne, w tym preparat mlekozastępczy lub mleko pełne. W ostatniej dekadzie badania naukowe obejmujące tematykę podawania preparatu mlekozastępczego w pierwszym okresie odchowu cieląt związane były między innymi z optymalizacją wartości pokarmowej (Berends i in., 2020; Wilms i in., 2022; Fukami i in., 2025; Wilms i in., 2025), składu surowcowego (Carter i in., 2021; Ravelo i in., 2022; Welboren i in., 2023; Mellors i in., 2023), rekomendowanej dobowej dawki (Chapman i in., 2016; Hu i in., 2020; Orellana Rivas i in., 2020; Suarez-Mena i in., 2021), zarządzania modelem podawania oraz jego wpływ na efekty krótko- i długoterminowe (Zened i in., 2024; Leal i in., 2025a). W okresie podawania pasz płynnych bardzo trudno jednoznacznie wskazać optymalną dawkę preparatu mlekozastępczego (lub mleka pełnego), która umożliwiłaby uzyskanie dynamicznego wzrostu cieląt oraz rozwoju przedżołądków jako efektu dużego pobrania drugiego, znacznie tańszego elementu dawki pokarmowej, jakim jest mieszanka treściwa starter. Maksymalizacja pobrania przez cielęta paszy stałej w okresie podawania pasz płynnych wpływa pozytywnie na rozwój układu pokarmowego i jest skorelowana z lepszymi wynikami produkcyjnymi, w tym z przyrostami masy ciała w kolejnych okresach, w których stosuje się wyłącznie żywienie paszami stałymi (Movahedi i in., 2017).

Ewolucja układu pokarmowego cieląt w okresie postnatalnym jest złożonym procesem będącym wypadkową wzrostu i dojrzewania poszczególnych jego narządów (Mirzaei i in., 2017). Jednym z podstawowych żywieniowych elementów determinujących rozwój komory czepcowo-żwaczowej jest maksymalizacja pobrania mieszanki treściwej starter (*ang. dry matter intake; DMI*), zawierającej znaczne ilości węglowodanów niestrukturalnych (skrobia) stanowiących substrat do fermentacji typu masłowo-propionowej oraz stały dostęp do dobrej jakości wody. Rozkład mikrobiologiczny składników pokarmowych znacznie tańszej wysokoskrobiowej mieszanki treściwej starter umożliwia zastąpienie glukozy z preparatu mlekozastępczego, jako podstawowego źródła energii dla tkanek i narządów, lotnymi kwasami tłuszczowymi (LKT) (Kertz, 2023). Wraz ze wzrostem spożycia paszy stałej,

obniża się koncentracja glukozy we krwi (Quigley i in., 1991a) oraz rośnie ciał ketonowych pochodzących z metabolizmu kwasu masłowego do  $\beta$ -hydroksymaślanu (Quigley i in., 1991a; Quigley i in., 1992). Dominującymi kwasami organicznymi produkowanymi w wyniku rozkładu mikrobiologicznego wysokoskrobiowej mieszanki treściwej starter są głównie kwasy propionowy i masłowy oraz w znacznie mniejszej ilości kwas octowy (Quigley i in., 1991b). Pierwsze dwa wymienione lotne kwasy tłuszczowe stymulują przede wszystkim rozwój i aktywność metaboliczną błony śluzowej, natomiast kwas octowy jest odpowiedzialny za stymulację błony mięśniowej żwacza. Z drugiej strony, mając na uwadze powyższe przemiany metaboliczne, należy podkreślić, że jednym z ważniejszych czynników determinujących efektywny rozkład mikrobiologiczny składników pokarmowych i rozwój mikrobiomu tej kluczowej komory żołądka jest pH płynu żwacza. Chociaż mechanizm regulacji jego wartości w pierwszym okresie odchowu cieląt nie został w pełni zbadany i wyjaśniony, (Gelsinger i in., 2020) podobnie jak w przypadku żywienia dorosłych przeżuwaczy, skarmianie znacznych dawek węglowodanów niestrukturalnych (skrobi) może sprzyjać destabilizacji fermentacji oraz występowaniu podostrej kwasicy żwacza (Laarman i in., 2011; 2012), która pośrednio negatywnie wpływa na aktywność metaboliczną wątroby i odporność zwierząt (Kim i in., 2019). Intensywny rozkład mikrobiologiczny skrobi w przedżołądkach do LKT może być przyczyną nadmiernego obniżenia pH płynu żwacza, a tym samym dynamicznego wzrostu i keratynizacji brodawek oraz błony śluzowej pogarszając wchłanianie produktów fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej (Beiranvand i in., 2014a; Beiranvand i in., 2014b; EbnAli i in., 2016). Żywienie cieląt dawką pokarmową składającą się od 40 do 100% z pasz treściwych powoduje, że średni zakres wartości pH płynu żwacza kształtuje się od 5,09 do 5,31 (Suárez i in., 2007), a jego wzrost obserwuje się dopiero między 35 a 70 dniem życia (Khan i in., 2008). Podobnie w kolejnym etapie odchowu (tzw. okres przejściowy) opartym wyłącznie na żywieniu paszami stałymi w którym średnie pobranie mieszanki treściwej wynosi około 2,5 kg suchej masy obserwuje się obniżenie pH płynu żwacza poniżej 5,40, co również może wskazywać na wystąpienie podostrej kwasicy żwacza (Laarman i in., 2012, Suarez-Mena i in., 2015; Gelsinger i in., 2020; Zhang i in., 2024). W ostatnich latach podjęto badania, których tematyka obejmuje rozwój komory czepcowo-żwaczowej w odpowiedzi na rosnącą ilość szybko fermentujących węglowodanów niestrukturalnych w dawkach pokarmowych dla cieląt.

Naukowcy skupiają się głównie na modulowaniu jej funkcji oraz przebiegu procesu fermentacji mikrobiologicznej. Dlatego aktualnie, w świetle badań naukowych związanych zarówno z optymalizacją programu żywienia cieląt w pierwszym okresie odchowu jak i profilaktyką występowania zaburzenia metabolicznego, jakim jest podostra kwasica żwacza, kolejnym elementem stanowiącym przedmiot dyskusji jest zastosowanie pasz strukturalnych jako elementu dawki pokarmowej na tym etapie odchowu.

Podawanie cielętom w pierwszym okresie odchowu pasz objętościowych jako źródła węglowodanów strukturalnych pozostaje tematem budzącym wątpliwości, co potwierdzają liczne, a zarazem zróżnicowane wyniki badań naukowych publikowanych na przełomie ostatnich kilku dekad. Do początku lat 50. XX wieku pasza objętościowa podawana *ad libitum* stanowiła jeden z elementów dawki pokarmowej dla cieląt, a jako uzasadnienie jej stosowania wskazywano przede wszystkim pozytywny wpływ na behawior żywieniowy młodych zwierząt – ograniczenie pobrania ściółki (McCandlish i in., 1923), skrócenie okresu występowania biegunki (Pounden i in., 1951) oraz rozwój żwacza (fizyczne oddziaływanie; Hibbs i in., 1953). W badaniach Warner i in. (1956) wykazano pozytywny wpływ podawania kompilacji paszy treściwej oraz siana na rozwój tkanek układu pokarmowego w porównaniu do cieląt żywionych wyłącznie paszami płynnymi. Jednak efektem kolejnych badań związanych z doskonaleniem modelu żywienia cieląt w pierwszym okresie odchowu była eliminacja pasz objętościowych z dawki pokarmowej, wskazując wysokoskrobiową mieszankę treściwą starter jako podstawowy element żywieniowy wpływający pozytywnie zarówno na rozwój komory czepcowo-żwaczowej jak i wyniki produkcyjne cieląt (Tamate i in., 1962). W wyniku rozkładu mikrobiologicznego węglowodanów niestrukturalnych zawartych w tego rodzaju paszy powstają lotne kwasy tłuszczowe, w tym przede wszystkim masłowy i propionowy, które stymulują rozwój brodawek i błony śluzowej żwacza. Z kolei w wyniku fermentacji włókna surowego zawartego w paszach objętościowych powstaje kwas octowy, który wpływa pozytywnie na rozwój błony mięśniowej tego przedżołądka (Sutton i in., 1963). Dlatego rezygnacja z podawania pasz objętościowych w pierwszym okresie odchowu była związana z ograniczającym oddziaływaniem tego rodzaju komponentu paszowego na spożycie mieszanki treściwej starter (wolniejszy rozkład węglowodanów strukturalnych w żwaczu, dłuższe

wypełnienie jelit) i zmianę profilu fermentacji w kierunku octowym (Stobo i in., 1966; Leibholz i in., 1975).

Intensyfikacja programów żywienia cieląt oparta na zwiększeniu podawania dobowej dawki pasz płynnych (preparat mlekozastępczy lub mleko pełne) oraz maksymalizacji pobrania wysokoskrobiowej mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu wznowiła dyskusję związaną z możliwością stosowania pasz strukturalnych jako elementu dawki pokarmowej. Interakcje pomiędzy tymi paszami (szczególnie gdy cielęta otrzymują drobno granulowaną mieszankę treściwą starter) mogą negatywnie oddziaływać na fizjologię układu pokarmowego, szczególnie w okresie przedodsadzeniowym, powodując obniżenie wartości pH i ograniczenie motoryki żwacza (Laarman i Oba, 2011) oraz stymulować dynamiczny wzrost i keratynizację brodawek błony śluzowej, pogarszając możliwość wchłaniania produktów fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej (Beiranvand i in., 2014a; Beiranvand i in., 2014b). Nowe badania, obejmujące powyższą tematykę w odpowiedzi na rosnącą zawartość szybko rozkładalnych węglowodanów niestrukturalnych w dawkach pokarmowych dla cieląt, skupiają się głównie na zastosowaniu pasz strukturalnych jako elementu wspierającego modulowanie przebiegu procesu fermentacji mikrobiologicznej, a tym samym rozwoju tej kluczowej komory żołądka z punktu widzenia żywienia dorosłego przeżuwacza i jego mikrobiomu. Zastosowanie pasz strukturalnych w żywieniu cieląt budzi wątpliwości, szczególnie w pierwszych czterech tygodniach życia, ze względu na rozwijającą się w tym okresie aktywność celulolityczną mikroorganizmów w żwaczu, co może negatywnie wpływać na rozkład żwaczowy między innymi węglowodanów strukturalnych oraz ich akumulację w tym przedżołądku, opóźniając jego rozwój (Hill i in., 2012). Mając na uwadze powyższe zależności, przebadano szerokie spektrum czynników żywieniowych związanych z zastosowaniem tego rodzaju pasz w odchowcie cieląt, a do tych podstawowych należy zaliczyć rodzaj paszy strukturalnej (siano z lucerny, traw i owsa, słoma jęczmienna, kiszonka z kukurydzy, wysłodki buraczane, łuska sojowa lub bawełniana; Suarez i in., 2006a; Suarez i in., 2006b; Porter i in., 2007; Hill i in., 2008a; Hill i in., 2009; Hill i in., 2019a; Castells i in., 2012; Castells i in., 2013; Nemati i in., 2016; Terre i in., 2015; Omidi-Mirzaei i in., 2018), postać fizyczną mieszanki treściwej starter (Porter i in., 2007; Terré i in., 2015; Mirzaei i in., 2016), postać fizyczną paszy strukturalnej (granulowana lub siczka, długość od 2 mm do 40 cm; Montoro i in., 2013; Mirzaei

i in., 2015; Omidi-Mirzaei i in., 2018; Hill i in., 2019b), relację paszy treściwej do objętościowej (Groen i in., 2015), termin (Hosseini i in., 2016; Wu i in., 2018; Lin i in., 2018) oraz metodę podania (Overvest i in., 2015; Ebnali i in., 2016).

Podawanie różnego rodzaju paszy strukturalnej, w tym siana z lucerny, życicy trwałej lub owsa oraz słomy jęczmiennej jako elementu dawki pokarmowej dla cieląt w okresie żywienia paszami płynnymi, było związane z podobnym lub zwiększonym DMI bez negatywnego wpływu na strawność składników pokarmowych i współczynnik wykorzystania paszy (*ang. feed efficiency*; FE) oraz średnie przyrosty masy ciała (Castells i in., 2012; Castells i in., 2013; Wu i in., 2018; Cui i in., 2020). W ostatnich latach podejmowano próby określenia wpływu podawania innych, alternatywnych źródeł węglowodanów strukturalnych do dawki pokarmowej dla cieląt w pierwszym okresie odchowu w tym łuski sojowej, wysłodków buraczanych oraz kiszonki z kukurydzy. W badaniach Hill i in. (2008b) stwierdzili negatywny wpływ podawania łuski sojowej (od 5 do 10%) na całkowite pobranie mieszanki treściwej starter w pierwszych trzech miesiącach odchowu cieląt. Z kolei Maktabi i in. (2016) wykazali, że włączenie 10% wysłodków buraczanych do mieszanki treściwej starter wpłynęło pozytywnie na DMI oraz ADG cieląt w porównaniu do grupy kontrolnej; jednak zastosowanie 20% tego komponentu paszowego negatywnie wpłynęło na wyniki produkcyjne. Mirzaei i in. (2016) stwierdzili pozytywny wpływ zastosowania 15% kiszonki z kukurydzy w dawce pokarmowej dla cieląt na wyniki produkcyjne w tym DMI oraz ADG w porównaniu do grupy kontrolnej, co mogło być spowodowane obniżeniem suchej masy dawki pokarmowej i poprawą jej smakowitości. Z drugiej strony nie wykazano pozytywnego wpływu włączenia większej ilości kiszonki z kukurydzy (30%, 60%, 75% lub 100%) do dawki pokarmowej na wyniki produkcyjne cieląt w pierwszym okresie odchowu w porównaniu do zwierząt żywionych wyłącznie mieszanką treściwą starter (Suárez i in., 2007; Kehoe i in., 2019). Dodatkowo, w badaniach Kehoe i in. (2019) stwierdzili negatywny wpływ znacznego udziału (75% i 100%) tego rodzaju materiału paszowego w dawce pokarmowej na ograniczenie rozwoju błony śluzowej żwacza oraz dalszych odcinków układu pokarmowego. Aktualnie w praktyce stosuje się mieszanki treściwe starter o relatywnie niskiej zawartości węglowodanów strukturalnych (16-28% NDF) (Davis i Drackley, 1998; Castells i in., 2012; Quigley, 2024), co ma na celu między innymi maksymalizację strawności składników pokarmowych. Dlatego jednym z kluczowych elementów

związanych z wprowadzeniem pasz strukturalnych do dawki pokarmowej dla cieląt powinna być optymalizacja wartości pokarmowej, w tym zawartości węglowodanów strukturalnych (Khan i in., 2016; Xiao i in., 2023; Zhang i in., 2023). Potwierdzenie powyższego stwierdzenia mogą stanowić wyniki badań przedstawiających wprowadzenie siana z owsa lub lucerny jako pasz strukturalnych stanowiących element dawki pokarmowej dla cieląt w pierwszym okresie odchowu. Mirzaei i in. (2015) i Jahanimoghadam i in. (2015) wykazali wyższe DMI w przypadku podawania siana z lucerny (+14%) w porównaniu do siana z owsa (+8%), siana z życicy trwałej (+4%), słomy jęczmiennej (+5%) czy kiszonki z kukurydzy (+5%), co mogło być związane między innymi z różnicami w wartości pokarmowej lub relacją paszy strukturalnej do treściwej w dawce pokarmowej – wraz ze wzrostem udziału paszy strukturalnej obserwuje się ograniczenie strawności masy organicznej, a tym samym DMI i ADG (Imani i in., 2017). Z drugiej strony, Castells i in. (2012) i Zou i in. (2018) stwierdzili poprawę wyników produkcyjnych w tym DMI i ADG w grupie zwierząt otrzymujących siewkę siana z owsa w porównaniu do siana z lucerny, wskazując jako główną przyczynę różnic wyższą zawartość węglowodanów niestrukturalnych oraz niższą węglowodanów strukturalnych w tym NDF, co mogło pozytywnie wpłynąć na rozkład żwaczowy i strawność składników pokarmowych w układzie pokarmowym.

Węglowodany strukturalne (w tym NDF) zawarte w paszach objętościowych stanowią istotny składnik dawki pokarmowej krowy mlecznej, zarówno w okresie zasuszenia jak i laktacji, stanowiąc substrat do produkcji energii w postaci LKT. Ponadto, są jednym z elementów determinujących postać fizyczną dawki pokarmowej, regulując procesy fermentacji mikrobiologicznej poprzez stymulację sekrecji śliny (naturalny bufor pH płynu żwacza), zapewniając tym samym optymalne warunki sprzyjające utrzymaniu dużej aktywności mikroorganizmów w żwaczu oraz prawidłową motorykę układu pokarmowego. W przypadku żywienia cieląt wydaje się, że pasze strukturalne mogą wpływać również na postać fizyczną mieszanki treściwej starter poprawiając jej spożycie poprzez modulowanie przebiegu procesu fermentacji, wpływając pozytywnie na rozwój błony mięśniowej oraz pośrednio śluzowej żwacza (Castells i in., 2012). Drackley (2008) wykazał, że stosowanie mieszanki treściwej starter przeznaczonej dla cieląt w pierwszym okresie odchowu o dobrej strukturalności uzyskanej między innymi przez dodatek całego ziarna owsa, kukurydzy czy wysłodków buraczanych pozytywnie wpływa na wskaźniki produkcyjne oraz rozwój układu

pokarmowego. Z kolei Bach i in. (2007) oraz Bach i in. (2017) wykazali, że podawanie cielętom mieszanki treściwej starter w postaci ekstrudowanej (*ang. texturized*; tj. musli), zwiększa całkowite pobranie suchej masy oraz strawność składników pokarmowych w porównaniu do paszy granulowanej. W praktyce jednym z czynników ograniczających zakup paszy w tej postaci fizycznej stanowi cena – wyższa w porównaniu do paszy granulowanej (Porter i in., 2007). Alternatywnym rozwiązaniem dla ekstrudowanej mieszanki treściwej starter może być podawanie jej w formie granulowanej z dodatkiem siewki siana, w tym z traw lub owsa. Zdaniem Terré i in. (2013) podawanie pasz objętościowych jako elementu granulowanej mieszanki treściwej starter wydaje się konieczne z punktu widzenia poprawy zdrowotności żywca, a przez to wskaźników produkcyjnych. Podobnie, Castells i in. (2012) wykazali, że podanie mieszanki treściwej starter, zawierającej 18% NDF uzupełnionej poprzez dodanie 10% siewki siana z owsa, wpłynęło pozytywnie na całkowite pobranie paszy stałej, wskaźniki zoometryczne bez równoczesnego pogorszenia strawności oraz FE. Zarówno w badaniach Terré i in. (2013) jak i Castells i in. (2013) zaobserwowano u cieląt otrzymujących mieszankę treściwą z dodatkiem siewki siana z owsa wzrost wartości pH płynu żwacza, co potwierdza efekt modulujący przebiegiem procesu fermentacji mikrobiologicznej, który może równocześnie pośrednio stymulować do większego spożycia wysokoskrobiowej paszy treściwej. W badaniach Montoro i in. (2013) wykazano pozytywny wpływ podawania granulowanej mieszanki treściwej starter zawierającej 10% siewki siana z traw (długość od 3 do 4 cm) na wyniki produkcyjne cieląt w tym DMI, ADG oraz FE w porównaniu do grupy otrzymującej zmieloną paszę strukturalną (długość 2 mm), wskazując, że nie tylko rodzaj stosowanej paszy strukturalnej, ale również jej postać fizyczna wpływają bezpośrednio na rozwój układu pokarmowego. Dłuższy rozmiar cząstek paszy strukturalnej wpłynął pozytywnie na wyniki odchowu, prawdopodobnie ze względu na wydłużony czas przeżuwania cieląt, co zwiększyło produkcję śliny, a w konsekwencji poprawiło efekt buforowania płynu żwacza oraz modulowania przebiegu fermentacji mikrobiologicznej (Laarman i Oba, 2011). Podobnie, Mirzaei i in. (2015) ocenili wpływ wielkości cząstek (krótkie, 2,92 mm vs. długie, 5,04 mm) siana z lucerny na wyniki produkcyjne cieląt przy dwóch różnych poziomach suplementacji (niski, 8% vs. wysoki, 16%). Autorzy nie zaobserwowali różnic w tempie wzrostu między cielętami karmionymi sianem i bez niego, ale wyższe DMI i odsadzeniową masę ciała w grupie

cieląt karmionych niskimi poziomami lucerny o długich cząstkach (8% i 5,04 mm) i wysokimi poziomami o krótkich cząstkach (16% i 2,92 mm) w porównaniu z cielętami karmionymi niskim poziomem o krótkich cząstkach (8% i 2,92 mm) i wysokimi udziale o długich cząstkach paszy strukturalnej (16% i 5,04 mm). Krótki rozmiar cząstek przy niższym poziomie suplementacji siana z lucerny może nie mieć potencjału fizycznego do poprawy ruchliwości, rozwoju i pojemności komory czepcowo-żwaczowej, podczas gdy negatywny wpływ długiego rozmiaru cząstek przy wysokim poziomie suplementacji może być związany z niższą strawnością masy organicznej długich cząstek w porównaniu z krótkimi (Mirzaei i in., 2015; Xiao i in., 2020).

Kolejnymi czynnikami, będącymi przedmiotem badań naukowych w omawianym obszarze związanym z podawaniem paszy strukturalnej w pierwszym okresie odchowu, są wiek cieląt w momencie rozpoczęcia suplementacji oraz metoda jej podania. Wu i in. (2018) nie wykazali różnic związanych z wpływem podawania siana z lucerny lub owsa w 3 lub 15 dniu życia zwierząt na przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wyniki produkcyjne w tym DMI oraz ADG. Z kolei w badaniach Hosseini i in. (2016) i Lin i in. (2019) wykazano pozytywny wpływ podawania odpowiednio siana z lucerny lub owsa na wyniki produkcyjne w tym DMI i ADG, a najlepsze wskaźniki wzrostu i rozwoju żwacza stwierdzono podczas wprowadzenia tego rodzaju paszy do dawki pokarmowej od 2. tygodnia życia w porównaniu do późniejszych terminów w tym od 4. lub 6. tygodnia życia. Dlatego, mając na uwadze powyższe zależności, rekomendowane jest włączenie siana z lucerny lub owsa do dawki dla cieląt w okresie od urodzenia do najpóźniej 2. tygodnia życia. W dotychczasowych badaniach naukowych pasza strukturalna wraz z mieszanką treściwą starter były podawane razem (*ang. as total mixed ration; TMR*) lub osobno z możliwością swobodnego pobrania (*ang. as free choice; FC*). W badaniach Castells i in. (2012) oprócz pozytywnego wpływu podawania paszy objętościowej na przebieg fermentacji mikrobiologicznej w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wyniki produkcyjne w pierwszym okresie odchowu cieląt wykazano wyższe pobranie tego elementu dawki pokarmowej o 5% podawanego metodą FC. Imani i in. (2017) w przeprowadzonej meta-analizie również potwierdzili powyższy wniosek; podawanie paszy objętościowej metodą FC wpływało pozytywnie na DMI i ADG w porównaniu do TMR. Z drugiej jednak strony, warto podkreślić, że dotychczas przeprowadzono niewiele kompleksowych badań porównujących wszystkie metody podawania paszy

strukturalnej do dawki pokarmowej na wyniki odchowu cieląt w okresie podawania pasz płynnych.

Chociaż kwestia żywienia cieląt mieszanką treściwą starter zawierającą paszę strukturalną jako element dawki pokarmowej była badana za pomocą narzędzi meta-analitycznych (Imani i in., 2017; Xiao i in., 2025), nadal brakuje jednoznacznych rekomendacji dotyczących podawania tego rodzaju paszy w pierwszym okresie odchowu (NASEM, 2021). Pomimo zwiększonej intensywności badań naukowych w tym obszarze wyniki są nadal niejednoznaczne. W tym miejscu należy podkreślić, że w literaturze można znaleźć nieliczne publikacje oryginalne, których celem jest porównanie wszystkich metod podania paszy objętościowej jako elementu dawki pokarmowej dla cieląt (Antúnez-Tort i in., 2023). Dodatkowo, do tej pory w niewielu doświadczeniach zastosowano słomę pszenżytnią jako źródło paszy strukturalnej w dawce pokarmowej dla cieląt w pierwszym okresie odchowu. Pomimo szerokiego spektrum czynników żywieniowych związanych z zastosowaniem pasz objętościowych w odchowu cieląt, przedmiotem dyskusji pozostaje również optymalizacja procentowego poziomu suplementacji w dawce pokarmowej, która zależy między innymi od stosowanych komponentów paszowych, postaci fizycznej paszy lub dobowej dawki paszy płynnej, a dotychczas wskazywane rekomendowane wartości zawierają się w przedziale od 3% do 5% (Hill i in., 2008a i b; Castells i in., 2013; Kertz, 2023), 10% (Montoro i in., 2013), 15% (Coverdale i in., 2004) lub 25% (Nemati i in., 2016). Mając na uwadze przedstawiony aktualny stan wiedzy, należy stwierdzić, że analiza zależności pomiędzy stosowaniem słomy pszenżytniej jako komponentu mieszanki treściwej starter oraz określenie wpływu metody podania paszy strukturalnej mogą przyczynić się do znacznego rozwoju wiedzy naukowej związanej z doskonaleniem modelu żywienia cieląt w pierwszym okresie odchowu oraz opracowania rekomendacji dla hodowców bydła i producentów mleka.

## **2. Hipotezy badawcze**

Mając na uwadze przedstawiony aktualny stan wiedzy sformułowano poniższe hipotezy badawcze:

1. Sieczka słomy pszenżytniej, jako komponent strukturalny mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt, wpływa pozytywnie na wskaźniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz status metaboliczny.
2. Metoda podawania sieczki siana z owsa może pozytywnie wpłynąć na wskaźniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz status metaboliczny cieląt w okresie podawania pasz płynnych.

W celu weryfikacji hipotez badawczych wykonano dwa zadania badawcze:

1. Określenie wpływu podawania słomy pszenżytniej jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi.
2. Zbadanie zależności pomiędzy metodą podawania sieczki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz statusem metabolicznym cieląt.

### **3. Cele badań**

1. Określenie wpływu podawania zróżnicowanego poziomu siewki słomy pszenżytniej do mieszanki treściwej starter na wskaźniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz status metaboliczny cieląt w okresie podawania pasz płynnych.
2. Określenie wpływu metody podawania siewki siana z owsa na wskaźniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz status metaboliczny cieląt w okresie podawania pasz płynnych.

## **4. Materiały i metody**

### **4.1 Charakterystyka pierwszego zadania badawczego**

Badania zostały wykonane w ramach realizacji projektu pt.: „Optymalizacja żywienia cieląt i odchów jałówek” o numerze 62/2015/U w Katedrze Żywienia Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, kierownik projektu prof. dr hab. Włodzimierz Nowak.

Wszystkie procedury badawcze zostały wykonane zgodnie z ustawą o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, obowiązującą na terenie Rzeczypospolitej Polskiej, która jest zgodna z dyrektywą UE (numer 2010/63/UE) oraz zatwierdzone przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu (21/2015).

#### **4.1.1 Materiał doświadczalny**

Czterdzieści cztery cieliczki rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (3 dzień życia; 39,6 kg masy ciała  $\pm$  0,39), pochodzące z jednego gospodarstwa, podzielono na zasadzie analogów według numeru laktacji krowy-matki (równa liczba cieląt urodzonych od pierwiastek i wieloródek) i przydzielono losowo do czterech grup doświadczalnych w okresie pierwszych 84 dni życia. Grupy doświadczalne wyznaczone na podstawie różnego udziału siewczki ze słomy pszenżytniej (długość 2 cm  $\pm$  0,5) w mieszance treściwej starter były następujące: kontrola, mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki ze słomy (KON, n = 11), 10% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej starter (LS, n = 11), 15% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej starter (MS, n = 11) oraz 20% udział siewczki ze słomy w mieszance treściwej typu starter (HS, n = 11).

Stan zdrowia cieliczek był codziennie monitorowany przez lekarza weterynarii. W przypadku wystąpienia biegunki lub zapalenia płuc zwierzęta były leczone zgodnie ze standardowym protokołem stosowanym na fermie. Ogólny stan zdrowia cieląt był dobry, nie zanotowano też żadnego przypadku śmiertelnego w całym okresie objętym doświadczeniem.

#### **4.1.2 Żywienie cieląt paszami płynnymi i stałymi**

Cieliczki odsadzano od krów-matek w ciągu 2 godzin po urodzeniu, umieszczając w cielętniku wyposażonym w kojce indywidualne (2,9 m  $\times$  1,1 m  $\times$  1,4 m; długość  $\times$  szerokość  $\times$  wysokość) wyścielone trocinami. Cielęta otrzymywały 4 L bardzo dobrej jakości siary (min. 50 g IgG/ L; Biemann i in., 2010) sondą przełykową

w pierwszej dobie życia (<2 h i <12 h). Odporność siarową określano na podstawie zawartości białka całkowitego (BC) w surowicy krwi w okresie od 24 do 48 godzin po urodzeniu (nr. T7528, Pointe Scientific, Warszawa, Polska) zgodnie z rekomendacjami Quigley i in. (2002). We wszystkich grupach doświadczalnych wykazano właściwą odporność siarową cieląt ( $BC > 6,0 \text{ g/dL} \pm 0,06$ ;  $P > 0,05$ ). W 2 i 3 dniu życia cielęta otrzymywały mleko przejściowe (4 L/d) w dwóch dawkach podawanych odpowiednio o godz. 09:00 i 17:00. Następnie zgodnie z przyjętym programem odpoju do 49 dnia życia podawano 6 L/d preparatu mlekozastępczego (21% białka ogólnego i 18% tłuszczu surowego w 1 kg suchej masy, 150 g proszku/L, Polmass, Bydgoszcz, Polska) w trzech dawkach, odpowiednio o godz. 06:00, 14.00, 20.00, a od 50 do 56 dnia życia w jednej dawce 2 L/d preparatu mlekozastępczego o godzinie 06:00. Sieczka ze słomy pszenżytniej (długość 2 cm  $\pm$  0,5) została pocięta przy użyciu sieczkarni (John Deere 7400) i wymieszana z mieszanką treściwą starter, zgodnie z przyjętym układem doświadczenia. W okresie doświadczenia (od 4 do 84 dnia życia) cieliczki miały stały dostęp do świeżej, czystej wody oraz otrzymywały *ad libitum* izobiałkowe (20% białka ogólnego w 1 kg suchej masy), granulowane mieszanki treściwe starter (Holagra, Leszno, Polska) zbilansowane zgodnie z normami żywienia przeżuwaczy (National Research Council; NRC, 2001). Pasza stała była podawana cieliczkom codziennie rano o godz. 10.00 po wcześniejszym zważeniu niedojadów (ilość mieszanki treściwej starter niezjedzonej w ciągu doby). W okresie objętym doświadczeniem jeden raz w tygodniu pobierano reprezentatywne próby mieszanek treściwych starter bezpośrednio po porannym karmieniu w celu oznaczenia wartości pokarmowej zgodnie z metodyką Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2010). W zebranych próbach pasz oznaczono zawartość suchej masy (SM, metoda nr 934.01), tłuszczu surowego (TS; metoda nr 973.18), białka ogólnego (BO, metoda nr 976.05) oraz ADF (metoda nr 973.18). Koncentracja węglowodanów niestrukturalnych (NFC) została obliczona zgodnie z rekomendacjami NRC, (2001) jako:  $NFC = 100 - (BO + NDF + TS + Ash)$ . Zawartość NDF i skrobi określono zgodnie z rekomendacjami odpowiednio, Van Soest i in., (1991) oraz Hall (2001), a koncentrację makroelementów przy użyciu spektrofotometru Optima 2000 DV metodą emisji indukcyjnej (ICP-OES). Granulowane, izobiałkowe mieszanki treściwe starter zawierały odpowiednio 0%, 10%, 15%, 20% udziału sieczki ze słomy pszenżytniej dla grup: KON, LS, MS, i HS, a tym samym były zróżnicowane pod względem zawartości skrobi (odpowiednio: 43,7%,

38,2%, 34,4%, 30,9%, SM) oraz NDF (odpowiednio: 17,8%, 21,3%, 27,4%, 30,5%, SM). Postać fizyczna siewki ze słomy, mieszanek treściwych typu starter oraz niedojadów była oceniana jeden raz w tygodniu z wykorzystaniem sit paszowych Penn State Particle Separator (PSPS, Pennsylvania State University, University Park), składających się z trzech sit o średnicy oczek 19, 8, 1,18 mm oraz tacy, zgodnie z rekomendacjami Kononoff i in. (2003). Na podstawie wyników postaci fizycznej mieszanek treściwych starter oraz niedojadów obliczono indeks sortowania (*ang. sorting index* %; SI) definiowany jako iloraz rzeczywistego (rozkład długości cząstek niedojadów) do przewidywanego pobrania cząstek na poszczególnych sitach i tacy PSPS pomnożony przez 100 (Leonardi i Armentano, 2003). Przewidywane spożycie poszczególnych frakcji obliczano jako iloczyn całkowitego pobrania mieszanki treściwej starter (DMI) oraz zawartości (%) suchej masy poszczególnych frakcji mieszanki treściwej starter na sitach i tacy PSPS. Wartość SI odpowiednio równa 100% oznacza brak sortowania, <100% oznacza sortowanie selektywne (sortowanie przeciw krótkim cząstkom), a >100% wskazuje na konsumpcję preferencyjną (sortowanie względem krótszych cząstek).

## 4.2 Metody badawcze

### 4.2.1 Wskaźniki produkcyjne

Cieliczki były ważone w 3 dniu życia, a następnie jeden raz w tygodniu przed porannym zadaniem paszy stałej przy użyciu wagi elektronicznej. Indywidualne pobranie mieszanki treściwej starter było analizowane codziennie w okresie doświadczenia. Całkowite pobranie suchej masy (*ang. total dry matter intake*; TDMI, kg/d: suma dobowego pobrania suchej masy preparatu mlekozastępczego oraz paszy stałej), średnie przyrosty masy ciała (ADG, kg/d: różnica pomiędzy końcową a początkową masą ciała podzielona przez liczbę dni) oraz współczynnik wykorzystania paszy (FE; ADG kg/d podzielone przez TDMI kg/d) zostały policzone dla trzech okresów odpowiednio: podawania pasz płynnych (3–56d), przejściowego (57–84d) oraz całego doświadczenia (3–84d). Wskaźniki zoometryczne, takie jak obwód klatki piersiowej (*ang. heart girth*, HG) oraz wysokość w krzyżu (*ang. hip height*, HH), mierzono w 3 dniu życia, a następnie jeden raz w tygodniu przed porannym zadaniem paszy stałej, wykorzystując odpowiednio miarę zootechniczną oraz laskę zoometryczną.

#### **4.2.2 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych oraz mikrobiologicznych w płynie żwacza**

Płyn żwacza (około 150 mL) pobierano sondą przełykową-dożwaczową o godz. 14.00 (4 h ± 30 min. po zadaniu paszy stałej) w 28, 56 oraz 84 dniu odchowu zgodnie z metodyką opisaną przez Stefańska i in. (2018, 2019). Wartość pH płynu żwacza została oznaczona bezpośrednio po pobraniu przy użyciu pH-metru CP-104 (Elmentron), a następnie materiał biologiczny podzielono na trzy części w celu oznaczenia koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) oraz azotu amoniakalnego (N-NH<sub>3</sub>) i wykonania analiz mikrobiologicznych.

Płyn żwacza przeznaczony do oznaczenia koncentracji LKT umieszczano w ilości 5 mL w plastikowych jednorazowych probówkach o pojemności 7 mL, a następnie dodawano 0,5 mL 85-procentowego kwasu mrówkowego (dezaminacja). Próby zostały poddane wirowaniu w celu separacji supernatantu (10 000 × g, przez 10 min. w temp. 20°C) zgodnie z procedurą opisaną przez Barszcz i in. (2011). Następnie otrzymany supernatant przenoszono do probówek chromatograficznych i mieszano z kwasem izokapronowym (standard wewnętrzny; IS) w proporcjach odpowiednio 15 mL IS do 100 mL. Przygotowane próby analizowano w dwóch powtórzeniach przy użyciu chromatografu gazowego HP 5890 Series II (Hewlett-Packard, Waldbronn, Niemcy) z detektorem płomieniowo-jonizującym (FID) i kolumną kapilarną Supelco Nukol (30 cm × 0,25 mm). Jako gazu nośnego użyto helu o natężeniu przepływowym 103 mL/min. Całkowity czas oznaczenia jednej próby wynosił 27 min. W materiale biologicznym oznaczono koncentrację kwasów: octowego, propionowego, masowego, izo-masłowego, walerianowego oraz izo-walerianowego w porównaniu do IS przy użyciu mieszaniny LKT o znanej koncentracji. Koncentrację azotu amoniakalnego w płynie żwacza oznaczono kolorymetrycznie przy użyciu spektrofotometru Marcel Media zmodyfikowaną metodą Nesslerera opisaną przez Stefańska i in. (2018). Ponadto, w zebranym materiale biologicznym wykonano ilościową analizę mikroskopową (Zeiss, type Primo Star no. 5) ogólnej liczby pierwotniaków, zgodnie z procedurą opisaną przez Michałowskiego i in. (1986), a w komorze Thoma (Blau Brand®, Wertheim, Niemcy) zbadano ogólną liczbę bakterii w oparciu o metodę opisaną przez Ericsson i in. (2000).

#### **4.2.3 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w próbach krwi**

Próby krwi z żyły szyjnej pobierano do probówek o pojemności 10 mL z aktywatorem przyspieszającym krzepnięcie krwi (KABE KB-0959 0031) o godz.

14.00 (4 h  $\pm$  30 min. po zadaniu paszy stałej) w 1, 28, 56 oraz 84 dniu życia. Pobrany materiał biologiczny wirowano (3000  $\times$  g, przez 15 min.) w celu separacji surowicy, którą następnie przenoszono do probówek typu Eppendorf o pojemności 1,5 mL i zamrażano w temp. -20°C do czasu wykonania analiz biochemicznych. W skolekcjonowanych próbach surowicy oznaczono koncentracje  $\beta$ -hydroksymaślanu (BHBA), azotu mocznikowego (BUN), insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-I) oraz wolnych kwasów tłuszczowych (NEFA). Koncentracje BHBA oraz BUN oznaczono z wykorzystaniem komercyjnych testów (Pointe Scientific, numery katalogowe: H7587-58 oraz B7552) po uprzednim rozcieńczeniu (1:1) metodą punktu końcowego przy użyciu spektrofotometru mikroplótkowego z wbudowanym inkubatorem przy długości fali 505 nm oraz 450 nm odpowiednio dla BHBA oraz BUN. Zawartość WKT wykonano metodą kolorymetryczną zgodnie z metodyką Duncombe (1964). Pomiar absorbancji inkubowanych prób oznaczono przy długości fali 440 nm z wykorzystaniem spektrofotometru Marcel Media i mikrokuwety firmy Hallema. Koncentrację IGF-I oznaczono przy użyciu komercyjnego kitu (Diagnostic Systems Laboratories, numer katalogowy DSL-2800) metodą radioimmunologiczną (RIA), która wykrywa reakcję antygenu ze swoistym dla niego przeciwciałem, w oparciu o pomiar radioaktywności izotopu I 125, którym oznaczony jest jeden ze składników reakcji antygen lub przeciwciało (Yellow i in., 1960). Odczyt promieniowania (liczba błysków) i przeliczenie na stężenie hormonu w badanej próbce wykonano z wykorzystaniem czytnika promieniowania Gamma Automatic Counter 1470.

### 4.3 Analiza statystyczna

Wyniki opracowano statystycznie wykorzystując pakiet statystyczny SAS v 9.4 (2014). Statystyka opisowa analizowanych cech została przygotowana wykorzystując procedury PROC UNIVARIATE oraz PROC MEANS. Ogólna liczba bakterii oraz pierwotniaków zostały przekształcone przed wykonaniem analizy statystycznej za pomocą funkcji transformacji logistycznej. Charakterystykę próby określono przy pomocy średnich arytmetycznych oraz odchylenia standardowego. Pobranie mieszanki typu starter oraz wyniki produkcyjne zostały poddane analizie statystycznej z zastosowaniem procedury powtórzonych pomiarów MIXED MODEL dla trzech okresów odpowiednio: podawania pasz płynnych (3–56d), przejściowego (57–84d) oraz całego doświadczenia (3–84d) według poniższego modelu:

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{Zwierzę}_i + \text{Grupa}_j + \text{Okres}_k + (\text{Grupa} \times \text{Okres})_{kj} + E_{ijkl} + e_{ijklm}, \text{ gdzie:}$$

$Y_{ijklm}$  – wartość fenotypowa cechy,

$\mu$  – średnia wartość cechy w populacji,

$\text{Zwierzę}_i$  – efekt losowy cielęcia jako jednostki doświadczalnej;

$\text{Grupa}_j$  – efekt stały grupy doświadczalnej ( $j = \text{KON, LS, MS, HS}$ ),

$\text{Okres}_k$  – efekt stały 14-dniowego okresu pomiarowego dla wszystkich zmiennych ( $k = \text{liczba 14-dniowych okresów pomiarowych}$ ),

$(\text{Grupa} \times \text{Okres})_{jk}$  – efekt stały interakcji pomiędzy grupą doświadczalną a okresem,

$E_{ijkl}$  – błąd pobrania próby,

$e_{ijklm}$  – błąd losowy.

W zastosowanej analizie MIXED MODEL efekty grupy doświadczalnej, okresu oraz interakcji grupy doświadczalnej i okresu były uznawane za efekty stałe, natomiast zwierzę za efekt losowy. Sezon urodzenia oraz początkowa masa ciała nie zostały uwzględnione

w modelu statystycznym, jako współczynniki cząstkowe regresji liniowej pierwszego stopnia, ponieważ były nieistotne statystycznie (odpowiednio  $P > 0.15$  i  $P > 0.24$ ). W celu szczegółowego porównania średnich obiektowych przeprowadzono szereg porównań z zastosowaniem testu Duncana. Istotność różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi deklarowano na poziomie  $P \leq 0,05$  i  $P \leq 0,01$  oraz tendencję  $0.05 < P \leq 0.1$ .

Dane dotyczące masy ciała, indeksu sortowania, przebiegu fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej, wskaźników biochemicznych krwi oraz pomiarów

zometrycznych, w tym obwodu klatki piersiowej i wysokości w krzyżu, poddano analizie jednoczynnikowej wariancji ANOVA według poniższego modelu:

$Y_{ij} = \mu + \text{Grupa}_i + e_j$  gdzie:

$Y_{ij}$  – wartość fenotypowa cechy;

$\mu$  – średnia wartość cechy w populacji;

$\text{Grupa}_i$  – efekt stały grupy doświadczalnej ( $j = \text{KON}, \text{LS}, \text{MS}, \text{HS}$ ),

$e_j$  – błąd losowy.

#### 4.4 Charakterystyka drugiego zadania badawczego

Badania zostały wykonane w ramach realizacji projektu pt.: „Zastosowanie siana z owsa w żywieniu cieląt” o numerze 80/2016/B w Katedrze Żywienia Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, kierownik projektu prof. dr hab. Włodzimierz Nowak.

Wszystkie procedury badawcze zostały wykonane zgodnie z ustawą o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, obowiązującą na terenie Rzeczypospolitej Polskiej, która jest zgodna z dyrektywą UE (numer 2010/63/UE) i zatwierdzone przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu (32/2016).

##### 4.4.1 Materiał doświadczalny

Czterdzieści cztery cieliczki rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (3 dzień życia; 39,6 kg masy ciała  $\pm$  0,39), pochodzące z jednego gospodarstwa, podzielono na zasadzie analogów według numeru laktacji krowy-matki (równa liczba cieląt urodzonych od pierwiastek i wieloródek) i przydzielono losowo do czterech grup doświadczalnych w okresie pierwszych 84 dni życia. Grupy doświadczalne wyznaczone na podstawie metody podawania siewczki siana z owsa (długość 2 cm  $\pm$  0,5) były następujące: kontrola, mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki siana z owsa (KON, n = 10), mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewczki siana z owsa (OH, n = 10), mieszanka treściwa starter z 10% udziałem siewczki siana z owsa oraz siewczka siana z owsa podawana *ad libitum* (OH + FC, n = 10) oraz mieszanka treściwa starter bez dodatku siewczki siana z owsa oraz siewczka siana z owsa podawane osobno *ad libitum* (FC, n = 10).

Stan zdrowia cieliczek był codziennie monitorowany przez lekarza weterynarii. W przypadku wystąpienia biegunki lub zapalenia płuc zwierzęta były leczone zgodnie ze standardowym protokołem stosowanym na fermie. Ogólny stan zdrowia cieląt był dobry. Nie zanotowano żadnego przypadku śmiertelnego w całym okresie objętym doświadczeniem.

##### 4.4.2 Żywienie cieląt paszami płynnymi i stałymi

Postępowanie z cielętami i model żywienia paszami płynnymi był analogiczny jak w przypadku wyżej opisanego pierwszego zadania badawczego. W badaniach zastosowano siewczkę siana z owsa jako paszę strukturalną podawaną zgodnie z przyjętym układem doświadczenia. Granulowane izobiałkowe (20% białka ogólnego

w 1 kg suchej masy) mieszanki treściwe starter były zróżnicowane pod względem zawartości NDF (17,8% i 24,2% SM) i skrobi (36,7% i 30,9% SM) odpowiednio dla grup doświadczalnych CON i FC oraz OH i OH + FC. Wartość pokarmowa mieszanek treściwych typu starter i siewki siana z owsa oraz jej postać fizyczna zostały oznaczone analogicznie jak w pierwszym zadaniu badawczym.

## **4.5 Metody badawcze**

### **4.5.1 Wskaźniki produkcyjne**

Cieliczki były ważone w 3 dniu życia, a następnie jeden raz na dwa tygodnie przed porannym zadaniem paszy stałej przy użyciu wagi elektronicznej. Indywidualne pobranie mieszanki treściwej starter było analizowane codziennie w okresie doświadczenia. Całkowite pobranie NDF, skrobi, białka ogólnego oraz suchej masy (TDMI, kg/d: suma dobowego pobrania suchej masy preparatu mlekozastępczego oraz paszy stałej), średnie przyrosty masy ciała (ADG, kg/d: różnica pomiędzy końcową a początkową masą ciała podzielona przez liczbę dni) oraz współczynnik wykorzystania paszy (FE; ADG kg/d podzielone przez TDMI kg/d) zostały policzone dla trzech okresów odpowiednio: podawania pasz płynnych (3–56d), przejściowego (57–84d) oraz całego doświadczenia (3–84d). Ponadto, w 3 dniu życia a następnie jeden raz na dwa tygodnie mierzono wysokość w krzyżu (HH) przed porannym zadaniem paszy stałej, wykorzystując laskę zoometryczną.

### **4.5.2 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w płynie żwacza**

Płyn żwacza (około 150 mL) pobierano sondą przełykową-dożwaczową o godz. 14.00 (4 h ± 30 min. po zadaniu paszy stałej) w 28, 56 oraz 84 dniu odchowu zgodnie z metodyką opisaną przez Stefańska i in. (2018, 2019). Wartość pH płynu żwacza została oznaczona bezpośrednio po pobraniu przy użyciu pH-metru CP-104 (Elmentron), a następnie materiał biologiczny podzielono na dwie części w celu oznaczenia koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) oraz azotu amoniakalnego (N-NH<sub>3</sub>) wykonanych analogicznie według procedur opisanych w pierwszym zadaniu badawczym.

### **4.5.3 Pobieranie i wykonanie analiz biochemicznych w próbach krwi**

Próby krwi z żyły szyjnej pobierano do probówek o pojemności 10 mL z aktywatorem przyspieszającym krzepnięcie krwi (KABE KB-0959 0031) o godz. 14.00 (4 h ± 30 min. po zadaniu paszy stałej) w 1 dniu życia, a następnie raz na dwa tygodnie w okresie doświadczenia. Pobrany materiał biologiczny wirowano

(3000 × g, przez 15 min.) w celu separacji surowicy, którą następnie przenoszono do probówek typu Eppendorf o pojemności 1,5 mL i zamrażano w temp. -20°C do czasu wykonania analiz biochemicznych. W skolekcjonowanych próbach surowicy wykonano analizy koncentracji β-hydroksymaślanu (BHBA), azotu moczniowego (BUN), insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-I) oraz wolnych kwasów tłuszczowych (NEFA) oznaczonych analogicznie według metodyki opisanej w pierwszym zadaniu badawczym.

#### 4.6 Analiza statystyczna

Wyniki opracowano statystycznie wykorzystując pakiet statystyczny SAS v 9.4 (2014). Statystyka opisowa analizowanych cech została przygotowana przy wykorzystaniu procedury PROC UNIVARIATE oraz PROC MEANS. Charakterystykę próby określono przy pomocy średnich arytmetycznych oraz odchylenia standardowego. Pobranie mieszanki treściwej starter, wyniki produkcyjne oraz wskaźniki biochemiczne krwi zostały poddane analizie statystycznej z zastosowaniem procedury powtórzonych pomiarów MIXED MODEL dla trzech okresów odpowiednio: podawania pasz płynnych (3–56d), przejściowego (57–84d) oraz całego doświadczenia (3–84d) według poniższego modelu:

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{Zwierze}_i + \text{Grupa}_j + \text{Okres}_k + (\text{Grupa} \times \text{Okres})_{kj} + E_{ijkl} + e_{ijklm}, \text{ gdzie:}$$

$Y_{ijklm}$  – wartość fenotypowa cechy,

$\mu$  – średnia wartość cechy w populacji,

Zwierze<sub>i</sub> – efekt losowy cielęcia jako jednostki doświadczalnej;

Grupa<sub>j</sub> – efekt stały grupy doświadczalnej (j = KON, OH, OH + FC, FC),

Okres<sub>k</sub> – efekt stały 14-dniowego okresu pomiarowego dla wszystkich zmiennych (k = liczba 14-dniowych okresów pomiarowych),

(Grupa × Okres)<sub>jk</sub> – efekt stały interakcji pomiędzy grupą doświadczalną a okresem,

$E_{ijkl}$  – błąd pobrania próby,

$e_{ijklm}$  – błąd losowy.

W zastosowanej analizie MIXED MODEL efekty grupy doświadczalnej, okresu oraz interakcji grupy doświadczalnej i okresu były uznawane za efekty stałe, natomiast zwierzę za efekt losowy. W celu szczegółowego porównania średnich obiektowych przeprowadzono szereg porównań z zastosowaniem testu Duncana. Istotność różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi deklarowano na poziomie  $P \leq 0,05$  i  $P \leq 0,01$  oraz tendencję  $0.05 < P \leq 0.1$ .

Dane dotyczące masy ciała, przebiegu fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wysokości w krzyżu poddano analizie jednoczynnikowej wariancji ANOVA według poniższego modelu:

$$Y_{ij} = \mu + \text{Grupa}_i + e_j \text{ gdzie:}$$

$Y_{ij}$  – wartość fenotypowa cechy;

$\mu$  – średnia wartość cechy w populacji;

Grupa<sub>i</sub> – efekt stały grupy doświadczalnej (j = KON, OH, OH + FC, FC),

e<sub>j</sub> – błąd losowy

## 5. Wyniki

### 5.1 Określenie wpływu podawania słomy pszenżytniej jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi

Wyniki przedstawione w podrozdziale 5.1 zostały opublikowane w publikacji oryginalnej:

Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, J. Komisarek, and W. Nowak. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre- and post-weaning periods. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl)* 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

#### 5.1.1 Rozkład frakcji cząstek o zróżnicowanej długości mieszanek treściwych starter i niedojądów oraz indeks sortowania

W badaniach własnych stwierdzono większy ( $P \leq 0,05$ ) udział cząstek niedojądów na drugim (8-19 mm) oraz trzecim sicie (1,18–8 mm) paszowym PSPS mieszanek treściwych podawanych odpowiednio w grupach doświadczalnych HS i LS (Tabela 2). Podawanie cielętom granulowanej mieszanki treściwej starter zawierającej siewkę ze słomy pszenżytniej nie wpłynęło na indeks sortowania na pierwszym ( $P = 0,23$ ) i drugim ( $P = 0,18$ ) sicie oraz tacy ( $P = 0,33$ ); jakkolwiek cielęta otrzymujące mieszankę treściwą starter zawierającą 20% siewki słomy pszenżytniej (grupa HS) wykazywały wyższy wskaźnik sortowania krótkich cząstek (1,18–8 mm) na trzecim sicie PSPS w porównaniu do grupy LS (110,9 vs. 115,2%;  $P \leq 0,05$ ). Niezależnie od rosnącego poziomu udziału siewki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter cielęta sortowały cząstki paszy o średniej i krótkiej długości odpowiednio na drugim (8-19 mm) oraz trzecim (1,18-8 mm) sicie paszowym PSPS. Dodatkowo, wraz ze wzrostem zawartości siewki ze słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter z poziomu 0% (grupa KON) do 20% (grupa HS) stwierdzono wzrost oraz obniżenie pobrania odpowiednio NDF i skrobi w całym okresie doświadczenia ( $P < 0,001$ ; Tabela 3).

### **5.1.2 Pobranie mieszanki treściwej starter oraz wyniki produkcyjne**

W badaniach własnych wykazano wpływ podawania siewczki słomy pszenżytniej na pobranie mieszanki treściwej starter oraz TDMI odpowiednio w okresach przejściowym po odsadzeniu ( $P \leq 0,05$ ) i w całym okresie doświadczenia ( $P \leq 0,05$ ), a najlepsze wyniki stwierdzono w grupach LS i MS (Tabela 3). Ponadto, wykazano wyższe ADG w okresie żywienia paszami płynnymi (3-56d) w grupach LS i MS w porównaniu do grupy HS ( $P \leq 0,05$ ). Podawanie mieszanki treściwej zawierającej 20% siewczki słomy pszenżytniej wpłynęło na analizowane wskaźniki zoometryczne w tym zmiany w wysokości w krzyżu (HH) oraz obwodzie klatki piersiowej (HG) w okresach podawania pasz płynnych (3-56d) oraz całego doświadczenia (3-84d), a najkorzystniejsze wyniki ( $P \leq 0,05$ ) odnotowano w grupach KON i LS w porównaniu do grupy HS. Wraz ze wzrostem zawartości siewczki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter stwierdzono tendencję do obniżenia wysokości w krzyżu w dniu zakończenia doświadczenia. W badaniach własnych wykazano wzrost ( $P < 0,001$ ) spożycia mieszanki treściwej starter, NDF i skrobi, TDMI oraz ADG wraz z wiekiem cielęcia.

### **5.1.3 Przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz status metaboliczny cieląt**

Skarmianie mieszanki treściwej starter zawierającej siewczkę słomy pszenżytniej wpłynęło pozytywnie na przebieg fermentacji w tym wartość pH płynu żwaczowego oraz ilościowe i jakościowe zmiany w koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych w porównaniu do grupy kontrolnej ( $P \leq 0,05$ ; Tabela 4). Zwiększenie udziału paszy strukturalnej z poziomu 0% do 20% było związane ze wzrostem pH płynu żwaczowego z wartości 5,40 do 6,50 w 28 dniu odchowu; jednak w grupie HS efekt może być związany z niższym spożyciem mieszanki treściwej starter i skrobi oraz TDMI w całym okresie objętym doświadczeniem. Wyższą koncentrację LKT oraz kwasu propionowego w płynie żwaczowym ( $P \leq 0,01$ ) stwierdzono w grupie cieląt otrzymujących mieszankę treściwą starter bez siewczki słomy pszenżytniej (grupa KON) w porównaniu do pozostałych grup doświadczalnych. Ponadto, stwierdzono dynamiczną zmianę koncentracji kwasu masłowego w płynie żwaczowym w okresie doświadczenia. W 28. dniu odchowu koncentracja kwasu masłowego była niższa w grupach otrzymujących mieszanki treściwe starter zawierające siomę pszenżytnią w porównaniu do grupy kontrolnej; jednak odwrotne zależności w zawartości tego kwasu stwierdzono w 56 i 84

dniu odchowu ( $P \leq 0,05$ ). Wraz ze wzrostem udziału paszy strukturalnej w mieszance treściwej starter stwierdzono wzrost kwasu octowego w płynie żwaczowym, szczególnie w 56 i 84 dniu odchowu, a także relacje kwasów w tym  $C_2:C_3$  i  $C_4:C_5$  ( $P \leq 0,05$ ). Nie wykazano wpływu podawania siewki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter na koncentrację pozostałych analizowanych lotnych kwasów tłuszczowych w tym izo-masłowego, walerianowego, izo-walerianowego oraz azotu amoniakalnego ( $NH_3-N$ ) w płynie żwaczowym ( $P > 0,05$ ). W badaniach własnych wykazano wpływ grupy doświadczalnej na ogólną liczbę bakterii i pierwotniaków w płynie żwaczowym ( $P \leq 0,05$ ). Ponadto, liczebność obu analizowanych grup mikroorganizmów w płynie żwaczowym wzrastała wraz ze wzrostem zawartości siewki słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter od 0% (grupa KON) do 15% (grupa MS); jednak liczebność obniżyła się w grupie HS.

W badaniach własnych w grupie KON stwierdzono wyższą ( $P \leq 0,05$ ) koncentrację IGF-I w 28, 56 i 84 dniu odchowu oraz niższą ( $P \leq 0,05$ ) BHBA w surowicy krwi, szczególnie w 56 i 84 dniu, w porównaniu z cielętami żywionymi mieszankami treściwymi starter zawierającymi paszę strukturalną (Tabela 5). Nie wykazano wpływu czynnika doświadczalnego na koncentrację NEFA i BUN w okresie doświadczenia ( $P > 0,05$ ).

## **5.2 Zbadanie zależności pomiędzy metodą podawania siewczki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz statusem metabolicznym cieląt**

Wyniki przedstawione w podrozdziale 5.2 zostały opublikowane w publikacji oryginalnej:

Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, M. Taciak, J. Komisarek, and W. Nowak. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### **5.2.1 Pobranie mieszanki treściwej starter oraz wyniki produkcyjne**

W badaniach własnych nie wykazano wpływu metody podawania siewczki siana z owsa na spożycie mieszanki treściwej starter, pobranie skrobi i białka ogólnego, TDMI, ADG, FE oraz zmianę HH ( $P > 0,05$ ; Tabela 1). Ponadto, zgodnie z oczekiwaniami, cielęta spożywały mniej paszy stałej w okresie pierwszych 8 tygodni odchowu w porównaniu do okresu przejściowego. Wyższe spożycie mieszanki treściwej starter oraz TDMI stwierdzono w grupach OH i OH + FC w porównaniu do grup KON i FC od 10. tygodnia doświadczenia (Wykres 1 i 2). W grupach OH i OH + FC wykazano wyższe spożycie NDF ( $P < 0,001$ ) w porównaniu do grup KON i FC. Podobnie, pobranie mieszanki treściwej starter i NDF, TDMI, ADG oraz zmiana HH zwiększały się wraz z wiekiem cieląt (efekt okresu doświadczenia;  $P < 0,001$ ). W grupie OH stwierdzono wyższą masę ciała (BW) i HH w dniu odsadzenia (56 d; odpowiednio  $P = 0,05$  i  $P < 0,001$ ) oraz zakończenia doświadczenia (84 d; odpowiednio  $P = 0,05$  i  $P = 0,01$ ) w porównaniu z grupą KON; nie wykazano wpływu grupy doświadczalnej na ADG i HH ( $P > 0,05$ ).

### **5.2.2 Przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz status metaboliczny cieląt**

W badaniach własnych nie wykazano wpływu metody podania siewczki siana z owsa na wartość pH płynu żwaczowego ( $P > 0,05$ ; Tabela 2). Jednak, wyższą jego wartość, odpowiednio o 0,43 i 0,42 w 28 dniu odchowu stwierdzono w grupach cieląt żywionych granulowaną mieszanką treściwą starter zawierającą 10% suchej masy siana

z owsa (OH) oraz granulowaną mieszanką treściwą starter zawierającą 10% suchej masy siana z owsa i sianem z owsa podawanych w różnych wiadrach w ramach swobodnego dostępu do paszy (OH + FC) w porównaniu do grupy KON. Suma LKT oraz poszczególnych kwasów w tym octowego, masłowego oraz relacji kwasów octowego do propionowego (C<sub>2</sub>:C<sub>3</sub>) różniły się między grupami doświadczalnymi ( $P \leq 0,05$ ), a najwyższe wartości wymienionych wskaźników stwierdzono w grupach OH i OH + FC szczególnie w 56 i 84 dniu odchowu. Z drugiej strony, w wyżej wymienionych grupach stwierdzono najniższą koncentrację kwasu izo-walerianowego ( $P \leq 0,05$ ) w płynie żwaczowym, szczególnie po odsadzeniu. Nie stwierdzono wpływu metody podawania siczki siana z owsa na koncentrację pozostałych analizowanych lotnych kwasów tłuszczowych oraz NH<sub>3</sub>-N w płynie żwaczowym ( $P > 0,05$ ).

Wiek cieląt wpływał na koncentrację wszystkich wskaźników biochemicznych krwi; ale różnice między grupami doświadczalnymi stwierdzono w zawartości IGF-I (we wszystkich analizowanych okresach;  $P \leq 0,05$ ) oraz BHBA (w okresie przejściowym od 57 do 84 d;  $\leq 0,05$ ), a wyższe wartości tych parametrów odnotowano w grupach OH i OH + FC (Tabela 3).

## 6. Dyskusja

Cielęta w pierwszych tygodniach życia charakteryzują się wysokimi wymaganiami żywieniowymi oraz szybkim tempem wzrostu (Khan i in., 2016; Zhang i in., 2024). Dlatego jednym z celów żywienia zwierząt w tym okresie jest doskonalenie strategii odchowu w kierunku stymulacji rozwoju i właściwego przygotowania układu pokarmowego (komora czepcowo-żwaczowa) do efektywnego wykorzystywania pasz stałych oraz maksymalizacji przyrostów masy ciała. Lotne kwasy tłuszczowe powstające w wyniku rozkładu mikrobiologicznego mieszanki treściwej starter, zwłaszcza kwasy propionowy i masłowy stymulują wzrost i rozwój błony śluzowej żwacza (Lin i in., 2019; Chai i in., 2021). Jednak, ostatnie wyniki badań wykazały negatywny wpływ intensyfikacji podawania wyłącznie preparatu mlekozastępczego (lub mleka pełnego) oraz wysokoskrobiowej mieszanki treściwej starter na wartość pH płynu żwaczowego, rozkład żwaczowy składników pokarmowych, odporność (m. in. wzrost koncentracji białek fazy ostrej w tym haptoglobiny; Murray i in., 2014) oraz wyniki produkcyjne cieląt (Khan i in., 2016; Gelsinger i in., 2020). Dlatego aktualnie przedmiotem dyskusji jest podawanie paszy strukturalnej jako elementu wspierającego modulowanie przebiegiem procesu fermentacji mikrobiologicznej w żwaczu a tym samym rozwoju tej kluczowej komory żołądka i jego mikrobiomu z punktu widzenia żywienia dorosłego przeżuwacza. Dotychczasowe wyniki badań w tym zakresie wykazały pozytywny wpływ tego rodzaju paszy na poprawę rozwoju mikrobiomu żwacza poprzez wzrost liczebności bakterii fibrolitycznych (Yang i in., 2018; Cui i in., 2020), wzrost masy i grubości ściany mięśniowej, ograniczenie keratynizacji błony śluzowej żwacza oraz poprawę immunokompetencji (Castells i in., 2012; Khan i in., 2016; Xiao i in., 2020). Z drugiej strony niższa strawność węglowodanów strukturalnych z paszy strukturalnej w porównaniu do węglowodanów niestrukturalnych wraz z ograniczoną pojemnością układu pokarmowego cieląt w pierwszych tygodniach życia mogą obniżać DMI, rozwój żwacza i odsadzeniową masę ciała (Hill i in., 2008 a i b; Xiao i in., 2020). Mając na uwadze liczne, lecz bardzo zróżnicowane wyniki badań, kwestię podawania pasz strukturalnych w dawce pokarmowej w pierwszym okresie odchowu cieląt należy nadal uważać za przedmiot dyskusji.

## **6.1 Określenie wpływu podawania słomy pszenżytniej jako komponentu strukturalnego mieszanki treściwej starter w pierwszym okresie odchowu cieląt na wyniki produkcyjne, przebieg fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz wskaźniki biochemiczne krwi**

Dotychczas przebadanymi źródłami paszy strukturalnej jako elementu dawki pokarmowej dla cieląt w pierwszym okresie odchowu były siano z lucerny, siano z traw, siano z owsa, kiszonka z kukurydzy, słoma pszenna, słoma jęczmienna, łuska sojowa oraz wysłodki buraczane (Suárez i in., 2006; Porter i in., 2007; Hill i in., 2008 a i b; Hill i in., 2009; Hill i in., 2019a; Castells i in., 2012; Castells i in., 2013; Nemati i in., 2016; Terre i in., 2015; Omid-Mirzaei i in., 2018). Jednak, do tej pory w niewielu doświadczeniach zastosowano słomę pszenżytnią jako źródło paszy objętościowej oraz zbadano jej wpływ na wyniki odchowu cieląt. Pszenżyto jest wykorzystywane jako pasza dla zwierząt gospodarskich w tym przeżuujących w różnych formach, takich jak ziarno, śruta, kiszonka i słoma (Glamoclija i in., 2018). Ponadto, rosnące temperatury powietrza szczególnie w północnej i wschodniej części Europy oraz postępujący deficyt wody (DG Agriculture and Rural Development, 2019) powoduje, że ze względu na odporność na suszę ten gatunek zbóż jest coraz popularniejszą uprawą. Struktura uprawy potwierdza duże zainteresowanie pszenżytem, a w gronie głównych producentów można wskazać Polskę, Niemcy oraz Francję (USDA, 2019).

Optymalizacja poziomu paszy objętościowej jako elementu dawki pokarmowej dla cieląt jest jednym z kluczowych elementów z punktu widzenia maksymalizacji pobrania paszy stałej oraz wyników produkcyjnych w okresie odchowu. W badaniach własnych wykazano wpływ poziomu podawania siewki słomy pszenżytniej na pobranie mieszanki treściwej i TDMI oraz wyniki produkcyjne w tym ADG. Największe efekty stwierdzono w grupach LS oraz MS wskazując na korzystne oddziaływanie zastosowania siewki słomy z pszenżyta na poziomie od 10% do 15% jako elementu mieszanki treściwej starter. Beiranvand i in. (2014a) stwierdzili, że podawanie cielętom śrutowanej mieszanki treściwej starter (*ang. ground starter feed*) zawierającej 10% udział siewki siana z lucerny wpłynęło korzystnie na wyższe DMI oraz ADG, szczególnie w okresie przejściowym po odsadzeniu w porównaniu do grupy kontrolnej. Nemati i in. (2016) wykazali wraz ze wzrostem udziału siana z lucerny do poziomu 25% w śrutowanej mieszance treściwej wzrost TDMI, ADG, BW i HG w okresie przejściowym po odsadzeniu. Iqbal i in. (2019) wykazali, że zastosowanie 15% siewki

siana z owsa jako elementu granulowanej mieszanki treściwej starter przełożyło się na skrócenie wieku odsadzenia cieląt o 5 dni oraz zmniejszyło koszty paszy na jednostkę przyrostu masy ciała o 14% w porównaniu z konwencjonalną mieszanką treściwą starter nie zawierającą paszy strukturalnej. Ponadto, Hill i in. (2010) przedstawili wyniki regresji, w których źródło paszy strukturalnej nie wpływało negatywnie na wyniki produkcyjne oraz DMI, przy zastosowaniu do 3% NDF z pasz objętościowych w mieszance treściwej starter dla cieląt w okresie podawania pasz płynnych. Z drugiej strony, w badaniach własnych w grupie cieląt żywionych mieszanką treściwą starter zawierającą 20% siewki słomy pszenżytniej stwierdzono pogorszenie ADG w okresie podawania pasz płynnych oraz pobrania paszy stałej i TDMI zarówno w okresach odpowiednio odpoju paszami płynnymi jak i całego doświadczenia. Według, Mojahedi i in. (2018) pogorszenie wyników produkcyjnych mogło być związane z niższą strawnością składników pokarmowych ze względu na zbyt duży udział węglowodanów strukturalnych w dawce pokarmowej. W badaniach własnych strawność składników pokarmowych nie była analizowana, jednak wskaźnik FE (zwykle dodatnio skorelowany ze strawnością) przedstawiający relację ADG do TDMI, nie różnił się między grupami doświadczalnymi. W związku z tym gorsze wyniki produkcyjne w grupie HS mogły być związane z niższym w porównaniu do pozostałych grup rozkładem węglowodanów strukturalnych w żwaczu oraz większym wypełnieniem jelit. Prowadziło to pośrednio do zmniejszenia pobrania paszy stałej. Powyższe wyniki produkcyjne wskazują również, że zawartość 30,5% NDF w mieszance treściwej starter dla cieląt w pierwszym okresie odchowu jest zbyt wysoka. We wcześniej przeprowadzonych badaniach zawartość NDF w paszy stałej była zazwyczaj niższa; 14,8% (Beiranvand i in., 2014a), 24,5% (Nemati i in., 2016) i 28,6% (Iqbal i in., 2019). W badaniach własnych zawartość NDF w dawkach pokarmowych w grupach KON, LS, MS i HS wynosiła odpowiednio 17,8%, 21,3%, 27,4% i 30,5%; korzystny wpływ na wyniki odchowu cieląt w tym pobranie paszy stałej i przyrosty masy ciała obserwowano do poziomu 27,4% całkowitej zawartości NDF. Podobnie, Porter i in. (2007) wykazali lepsze wyniki produkcyjne oraz pH płynu żwacza w grupie cieląt żywionych mieszanką treściwą starter zawierającą 27% NDF w porównaniu do niższej zawartości - 20% NDF. Dodatkowo, w badaniach własnych wraz ze wzrostem udziału siewki słomy pszenżytniej w dawce pokarmowej, cielęta sortowały cząstki o średniej i krótkiej długości na drugim i trzecim sicie PSPS; szczególnie grupa HS. Costa i in. (2016)

zasugerowali, że zwierzęta przeżuujące od najmłodszego wieku dokonują wyborów żywieniowych, które mogą być motywowane między innymi zapotrzebowaniem żywieniowym, przebiegiem fermentacji w żwaczu lub potrzebą żucia i przeżuwania. W badaniach Montoro i in. (2013), wykazano, że zachowanie sortowania w okresie podawania pasz płynnych było uzależnione od długości cząstek paszy strukturalnej; cielęta sortowały siano zarówno o długich cząstkach jak i zmielone. Ponadto, Miller-Cushon i DeVries (2011) stwierdzili, że cielęta wykazują zachowanie związane z sortowaniem cząstek paszy strukturalnej z mieszanki treściwej starter, szczególnie w okresie podawania pasz płynnych, które zanika w okresie przejściowym po odsadzeniu. Z drugiej strony, w badaniach własnych zwierzęta były karmione granulowaną mieszanką treściwą starter zawierającą różny udział siewczki słomy pszenżytniej od urodzenia (3. dzień), co może wskazywać, że obserwowana aktywność sortowania nie była spowodowana neofobią żywieniową lub brakiem umiejętności motorycznych niezbędnych do pobrania cząstek paszy, ale prawdopodobnie wynikała z wysokiego poziomu słomy i całkowitej zawartości NDF w mieszance treściwej starter; szczególnie w grupie HS. Mając na uwadze powyższe wyniki produkcyjne cieląt w pierwszym okresie odchowu można stwierdzić, że rekomendowany poziom udziału siewczki słomy z pszenżyta oraz całkowitej zawartości NDF powinny odpowiednio zawierać się od 10 do 15% oraz do około 27% w dawce pokarmowej.

W badaniach własnych w grupie cieląt żywionych mieszanką treściwą starter zawierającą paszę strukturalną w postaci siewczki słomy pszenżytniej stwierdzono wyższą wartość pH płynu żwacza w porównaniu z grupą kontrolną. Wraz ze wzrostem udziału siewczki słomy pszenżytniej wykazano wzrost pH płynu żwacza z wartości 5,40 do 6,50 w 28 dniu odchowu, co może być związane z efektem modulowania środowiska żwacza poprzez wydłużony czas przeżuwania i zwiększoną sekrecję śliny buforującej płyn żwacza. Terre i in. (2013) oraz Mirzaei i in. (2017) zaobserwowali dłuższy czas przeżuwania w grupie cieląt otrzymujących paszę stałą zawierającą siewczkę siana z lucerny w porównaniu ze zwierzętami żywionymi mieszanką treściwą starter bez udziału paszy strukturalnej. Omidi-Mirzaei i in. (2018) wykazali, że cielęta żywione mieszanką treściwą starter zawierającą siewczkę słomy pszennej spędzały więcej czasu na przeżuwaniu niż grupa zwierząt otrzymująca siano z lucerny jako źródło paszy strukturalnej. Z drugiej strony wyższa wartość pH płynu żwacza była prawdopodobnie częściowo związana z niższą koncentracją LKT w grupie cieląt otrzymujących paszę

strukturalną w porównaniu z grupą kontrolną, co z kolei może wynikać z niższego tempa fermentacji węglowodanów strukturalnych w żwaczu, większego wchłaniania LKT przez ścianę żwacza lub obu tych czynników (Penner i in., 2009).

Podawanie mieszanki treściwej starter zawierającej siewkę słomy pszenżytniej jako paszę strukturalną wpłynęło na zmiany ilościowe i jakościowe profilu fermentacji w żwaczu obrazowanego między innymi poprzez sumę oraz koncentrację poszczególnych lotnych kwasów tłuszczowych w porównaniu do grupy kontrolnej. Wyniki badań własnych są zgodne z rezultatami prezentowanymi przez Castells i in. (2013) oraz Terre i in. (2013), którzy stwierdzili niższą całkowitą koncentrację LKT w płynie żwacza w grupach cieląt żywionych mieszanką treściwą starter i oddzielnie siewką siana z lucerny lub siana z owsa w porównaniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie granulowaną paszę treściwą. Ponadto, Frieten i in., (2018) wykazali, że koncentracja IGF-I we krwi cieląt jest dodatnio skorelowana z pokryciem zapotrzebowania energetycznego oraz koncentracją LKT w płynie żwacza. Podobny kierunek zmian stwierdzono w badaniach własnych; najwyższa koncentracja IGF-I w surowicy krwi w grupie cieląt otrzymujących wysokoskrobiową, szybko ulegającą fermentacji mieszankę treściwą starter bez dodatku paszy strukturalnej.

Wraz ze wzrostem udziału siewki ze słomy pszenżytniej w mieszance treściwej starter stwierdzono wzrost koncentracji kwasu octowego w płynie żwacza, szczególnie w 56 i 84 dniu, a także relacji kwasu octowego do propionowego (C<sub>2</sub>:C<sub>3</sub>). Stwierdzony kierunek zmian jest zgodny z wynikami badań Mirzaei i in. (2017) oraz Nemati i in. (2016) i jest prawdopodobnie związany z efektywniejszym rozkładem mikrobiologicznym węglowodanów strukturalnych przez bakterie celulolityczne w komorze czepcowo-żwaczowej. Ponadto, stwierdzono liniową zależność pomiędzy spożyciem skrobi a koncentracją kwasu propionowego w płynie żwacza - wraz z niższym poziomem skrobi w dawce pokarmowej a tym samym mniejszym spożyciem tego składnika pokarmowego wykazano niższą koncentrację kwasu propionowego. Z kolei wyższą koncentrację kwasu propionowego w płynie żwacza stwierdzono w grupie kontrolnej żywionej wysokoskrobiową mieszanką treściwą bez udziału paszy strukturalnej. W okresie objętym doświadczeniem, w 28 dniu odchowu stwierdzono niższą koncentrację kwasu masłowego w płynie żwacza w grupach cieląt otrzymujących paszę strukturalną, jednak od 56 dnia stwierdzono wzrost poziomu tego kwasu organicznego. Stwierdzone w badaniach własnych poziomy koncentracji

zarówno kwasu propionowego jak i masłowego w płynie żwacza w okresach podawania pasz płynnych oraz przejściowym mogą być związane z wyższym pobraniem skrobi w grupie kontrolnej w porównaniu do pozostałych grup doświadczalnych. Powstające w wyniku fermentacji mikrobiologicznej kwasy organiczne w tym zarówno propionowy jak i masłowy stymulują wzrost brodawek i rozwój błony śluzowej żwacza (Khan i in., 2016). Z drugiej jednak strony nadmierna synteza kwasu masłowego może sprzyjać keratynizacji brodawek błony śluzowej komory czepcowo-żwaczowej, zmniejszając w ten sposób efektywność wchłaniania produktów fermentacji w tym LKT i innych związków do krwi (McGavin i Morrill, 1976). W badaniach Beiranvand i in., (2014a) wykazano, że podawanie cielętom w pierwszym okresie odchowu dawki pokarmowej zawierającej paszę strukturalną powoduje pozytywny, mechaniczny efekt ścierania warstwy keratyny błony śluzowej żwacza. Ponadto, Castells i in. (2013) wykazali wyższą ekspresję genów transportera monokarboksylowego 1 (MCT1, ang. monocarboxylate transporter 1), który odgrywa bezpośrednią rolę we wchłanianiu LKT i kwasu mlekowego oraz mechanizmach metabolizmu energetycznego w błonie śluzowej żwacza w grupie cieląt otrzymujących paszę strukturalną. Zarówno regulacja grubości warstwy keratynizowanej jak i zwiększona ekspresja genów transporterów MCT1 w odpowiedzi na podawanie cielętom paszy strukturalnej w dawce pokarmowej w okresie podawania pasz płynnych może wskazywać na mechanizmy poprawy zdolności ściany żwacza do wchłaniania produktów fermentacji mikrobiologicznej w postaci LKT, pośrednio regulujące utrzymanie wyższej wartości pH płynu żwacza. W badaniach własnych nie analizowano funkcji ściany żwacza oraz efektywności wchłaniania LKT. Jednak fizjologicznym wskaźnikiem właściwego rozwoju układu pokarmowego i skorelowanego z nim wieku odsadzenia cieląt jest efektywny rozkład składników pokarmowych w żwaczu, a tym samym zastąpienie glukozy wchłanianej w jelicie cienkim pochodzącej z preparatu mlekozastępczego, jako podstawowego źródła energii dla tkanek i narządów, lotnymi kwasami tłuszczowymi powstającymi w wyniku rozkładu mikrobiologicznego mieszanki treściwej starter (Khan i in., 2011). W badaniach własnych stwierdzono wyższą koncentrację BHBA w surowicy krwi, szczególnie w 56 i 84 dniu doświadczenia w grupach zwierząt żywionych mieszanką treściwą starter zawierającą paszę strukturalną. BHBA jest produktem metabolizmu powstającego w wyniku fermentacji mikrobiologicznej kwasu masłowego oraz procesie ketogenezy w błonie śluzowej, a następnie wchłaniany przez ścianę żwacza -

koncentracja BHBA we krwi może być uznawana jako biomarker aktywności metabolicznej komórek błony śluzowej żwacza i pośrednio pobrania mieszanki treściwej starter (Khan i in., 2011). Mając na uwadze powyższe zależności można stwierdzić, że wyższa koncentracja BHBA w grupach cieląt otrzymujących w dawce pokarmowej paszę strukturalną może wskazywać na wyższą efektywność metabolizmu kwasu masłowego do BHBA w błonie śluzowej żwacza oraz jego prawidłowy rozwój (Khan i in., 2016).

Mikrobiom żwacza jest determinowany między innymi przez skład dawki pokarmowej w tym poziom i jakość węglowodanów niestrukturalnych i strukturalnych. Kim i in. (2019) wykazali zmiany ilościowe i jakościowe w mikrobiomie żwacza w grupie cieląt otrzymujących dawkę pokarmową zawierającą pasze strukturalną w porównaniu do grupy kontrolnej. Podobnie w badaniach własnych stwierdzono, że podawanie mieszanki treściwej starter zawierającej od 10% do 15% siewki słomy pszenżytniej spowodowało zmiany w populacji mikroorganizmów żwacza, czyli wzrost ogólnej liczby bakterii i pierwotniaków w porównaniu do grupy kontrolnej. Z drugiej strony, wykazane obniżenie liczebności analizowanych grup mikroorganizmów żwacza w grupie cieląt otrzymujących dawkę pokarmową zawierającą 20% siewki słomy pszenżytniej mogło być związane z niższym spożyciem mieszanki treściwej starter oraz TDMI.

## **6.2 Zbadanie zależności pomiędzy metodą podawania siewki siana z owsa w pierwszym okresie odchowu a wynikami produkcyjnymi, przebiegiem fermentacji w komorze czepcowo-żwaczowej oraz statusem metabolicznym cieląt**

Pomimo analizowanego szerokiego spektrum czynników żywieniowych związanych z zastosowaniem paszy strukturalnej w żywieniu cieląt w okresie podawania pasz płynnych dotychczas przeprowadzono niewiele kompleksowych badań porównujących wszystkie metody podawania tego rodzaju komponentu paszowego do dawki pokarmowej. W badaniach własnych nie stwierdzono wpływu metody podawania paszy strukturalnej w postaci siewki siana z owsa na pobranie mieszanki treściwej starter, skrobi, BO, TDMI, ADG, FE oraz zmianę HH. Z drugiej strony, stwierdzono najwyższe spożycie NDF we wszystkich okresach objętych doświadczeniem oraz pobranie paszy stałej i TDMI od 10. tygodnia odchowu w grupach OH oraz OH + FC. Wyniki badań własnych są częściowo spójne z wynikami Terre i in. (2013) oraz

Coverdale i in. (2004). W doświadczeniu Terre i in. (2013) cielęta otrzymywały granulowaną mieszankę treściwą starter o wysokiej bądź niskiej zawartości NDF oraz sieczkę siana z owsa osobno z możliwością swobodnego pobrania *ad libitum*; nie zaobserwowano różnic w pobraniu paszy stałej od urodzenia do 5 tygodnia, ale TDMI rosło liczbowo od 5 do 9 tygodnia odchowu. Z kolei w badaniach Coverdale i in. (2004) porównano wpływ podawania mieszanki treściwej starter wraz z sieczką siana z owsa i stwierdzono liczbowo wyższą masę ciała, ADG oraz FE w pierwszym okresie odchowu w porównaniu do grupy kontrolnej; jednak różnice nie były istotne statystycznie. Przedstawione wyniki mogły być związane z niewystarczającym okresem adaptacji zwłaszcza do rozkładu węglowodanów strukturalnych z paszy objętościowej (Coverdale i in. 2004). Z drugiej strony, w badaniach EbnAli i in. (2016) w których najlepsze wyniki produkcyjne stwierdzono w grupie cieląt karmionych sieczką z lucerny jako źródłem paszy strukturalnej podawanej osobno z możliwością swobodnego pobrania *ad libitum*. Niespójne wyniki w porównaniu z poprzednimi badaniami mogły wynikać z zastosowanej strategii żywienia cieląt (w tym modelu podawania preparatu mlekozastępczego), rodzaju i jakości paszy objętościowej (siano lucerny vs. siano owsiane) – niższa zawartość pektyn oraz wyższa hemicelulozy i NDF w sianie owsianym w porównaniu do siana z lucerny mogą wpływać na szybkość pasażu treści pokarmowej ze zwłaszcza do dalszych odcinków układu pokarmowego. Castells i in. (2013) wykazali wyższą odsadzeniową masę ciała w grupie cieląt żywionych paszą stałą zawierającą sieczkę siana z owsa w porównaniu do siana z lucerny. Według autorów uzyskane wyniki mogły być związane z szybszym pasażem treści przez układ pokarmowy, który pozytywnie wpłynął na pobranie paszy stałej i pośrednio proces ketogenezy wskazujący na wyższą aktywność metaboliczną i rozwój błony śluzowej zwłaszcza. Z drugiej strony w grupie cieląt żywionych sieczką siana z lucerny wyższy stopień wypełnienia układu pokarmowego wpływał na odsadzeniową masę ciała.

Dotychczasowe wyniki badań wskazały na negatywny wpływ niskiej wartości pH płynu żwacza związanej z intensywnym modelem żywienia cieląt opartym na skarmianiu znacznych dawek preparatu mlekozastępczego i wysokoskrobiowej mieszanki treściwej starter na wyniki produkcyjne cieląt w okresie podawania pasz płynnych (Khan i in., 2016; Meale i in., 2017). Dlatego, jako na jeden z istotnych elementów opracowywanych nowych strategii żywienia cieląt w pierwszym okresie

odchowu wskazuje się podawanie paszy strukturalnej w celu poprawy wartości pH płynu żwacza oraz stymulacji jego rozwoju. W badaniach własnych nie wykazano wpływu metody podawania siewki siana z owsa na wartość pH płynu żwacza. Jednak w grupach cieląt żywionych granulowaną mieszanką treściwą starter zawierającą 10% udział siewki siana z owsa (OH) oraz granulowaną mieszanką treściwą starter zawierającą 10% udział siewki siana z owsa i siewką siana z owsa podawanych osobno z możliwością swobodnego pobrania *ad libitum* (OH + FC) stwierdzono wyższą wartość pH płynu żwacza odpowiednio, o 0,43 i 0,42 w 28 dniu odchowu w porównaniu do grupy KON. Jedną z przyczyn pozytywnego wpływu podawania paszy strukturalnej jako elementu dawki pokarmowej dla cieląt na wartość tego parametru płynu żwacza może być wolniejszy rozkład mikrobiologiczny węglowodanów strukturalnych w porównaniu do niestrukturalnych zawartych w paszach treściwych (Khan i in., 2016). Ponadto, pasza strukturalna wpływa pozytywnie na aktywność przeżuwania i sekrecję śliny, która jest naturalnym buforem płynu żwacza (van Ackeren i in., 2009). Aktywność mikrobiologiczną (bakterie fibrolityczne, amylolityczne, proteolityczne oraz ureolityczne) w komorze czepcowo-żwaczowej cieląt można zaobserwować już w pierwszych dniach życia (pomiędzy 4 a 10 dniem), a poziom LKT jako produktu rozkładu mikrobiologicznego paszy stałej w drugim tygodniu życia (Meale i in., 2017). W badaniach własnych suma LKT, koncentracje kwasów octowego i masłowego oraz relacja kwasu octowego do propionowego (C<sub>2</sub>:C<sub>3</sub>) różniły się między grupami. Najwyższe koncentracje stwierdzono w grupach otrzymujących siewkę siana z owsa (szczególnie w grupach OH i OH + FC) zwłaszcza w okresie przejściowym po odsadzeniu, co mogło być związane z wyższym pobraniem paszy stałej i dłuższym okresem rozwoju mikrobiomu żwacza i jego adaptacji do efektywnego rozkładu dawki pokarmowej. Wcześniejsze wyniki badań wskazują, że koncentracja LKT w płynie żwacza uzależniona jest od objętości płynu żwacza jak również efektywności wchłaniania przez błonę śluzową, a relacja pomiędzy poszczególnymi kwasami wskazuje na kierunek przemian związany z rodzajem rozkładanych węglowodanów strukturalnych bądź niestrukturalnych (Dijkstra i in., 1993). Podobnie jak w badaniach własnych w doświadczeniu Terre i in. (2013) stwierdzili wyższą koncentrację kwasu octowego oraz relację kwasu octowego do propionowego w grupie cieląt otrzymujących paszę strukturalną, co wskazuje, że spożycie tego rodzaju paszy sprzyja wzrostowi bakterii fibrolitycznych w żwaczu.

Wzrost molowej relacji  $C_2:C_3$  może wskazywać na bardziej efektywny rozkład mikrobiologiczny białka. Podobnie jak w wynikach przedstawionych przez Mojahedi i in. (2018) podawanie paszy strukturalnej jako elementu dawki pokarmowej było związane z najniższą koncentracją kwasu izo-walerianowego, który jest produkowany w wyniku katabolizmu aminokwasów takich jak walina, izoleucyna, leucyna i prolina, a z drugiej strony może być wykorzystywany do biosyntezy tych aminokwasów. Ponadto, może stymulować wzrost bakterii fibrolitycznych, które wykorzystują kwas izo-walerianowy jako substrat do syntezy aminokwasów rozgałęzionych będących elementem budulcowym biomasy białka mikrobiologicznego, co równocześnie może być związane z niższą koncentracją tego kwasu w płynie żwacza. Ponadto, Cline i in. (1958) wykazali, pozytywną korelację pomiędzy ogólną liczbą mikroorganizmów, efektywnością rozkładu węglowodanów strukturalnych oraz tempem wykorzystania kwasu walerianowego (relacja kwasów masłowego i walerianowego) wskazując równocześnie na lepszy rozwój żwacza. Kwas masłowy jest podstawowym czynnikiem wpływającym na rozwój błony śluzowej żwacza, a tym samym jego możliwości absorpcyjne. Z drugiej strony nadmierna koncentracja tego kwasu powstająca w wyniku intensywnej fermentacji węglowodanów niestrukturalnych zawartych w paszach treściwych, może sprzyjać rogowaceniu (keratynizacji) nabłonka, ograniczając możliwości wchłaniania produktów fermentacji w postaci LKT (Nocek i Kesler, 1980). W badaniach własnych wykazano wpływ czynnika doświadczalnego na koncentrację kwasu masłowego; w grupie KON najwyższą zawartość odnotowano w 28 dniu, a najniższą w 56 dniu odchowu w porównaniu do pozostałych grup, w których mieszanka treściwa starter zawierała siewkę siana z owsa (OH i OH + FC). Można zatem przypuszczać, że w grupach OH i OH + FC siewka siana z owsa miała modulacyjny efekt na przebieg fermentacji oraz błonę śluzową żwacza. W badaniach własnych nie analizowano rozwoju błony śluzowej żwacza. Jednakże, pośrednim wskaźnikiem jej rozwoju jest koncentracja BHBA we krwi (Quigley i in., 1992); w badaniach własnych wyższy poziom stwierdzono w grupach OH i OH + FC szczególnie w okresie przejściowym po odsadzeniu. Ponadto, w tych grupach stwierdzono najwyższą koncentrację IGF-I. Insulinopodobny czynnik wzrostu I to hormon związany ze stanem energetycznym organizmu, który jest produkowany w wielu tkankach w całym organizmie, głównie w wątrobie (Jones i Clemmons, 1995). IGF-I jest stymulatorem wzrostu regulującym proliferację wielu typów komórek, w tym

komórek nabłonka komory żwaczowo-czepcowej i dalszych odcinków układu pokarmowego (Frieten i in., 2018). We wcześniejszych badaniach wyższa koncentracja tego hormonu była związana z wyższym pobraniem mieszanki treściwej starter i wynikami produkcyjnymi (Frieten i in., 2018). Jednak w badaniach własnych nie wykazano zależności pomiędzy zawartością IGF-I, a wynikami produkcyjnymi cieląt w pierwszym okresie odchowu.

## 7. Stwierdzenia i wnioski

W przeprowadzonych badaniach własnych podjęto próbę określenia wpływu paszy strukturalnej jako komponentu mieszanki treściwej starter oraz metody jej podawania na wskaźniki produkcyjne, fermentację w komorze czepcowo-żwaczowej oraz status metaboliczny cieląt w pierwszym okresie odchowu. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do sformułowania poniższych stwierdzeń i wniosków:

1. Podawanie mieszanki treściwej starter zawierającej 10% siewczki słomy z pszenżyta wpłynęło pozytywnie na wyniki produkcyjne, fermentację w żwaczu oraz koncentrację  $\beta$ -hydroksymaślanu we krwi cieląt w okresie podawania pasz płynnych.
2. Mieszanka treściwa starter zawierająca dodatek 20% siewczki słomy z pszenżyta wpłynęła negatywnie na wyniki produkcyjne cieląt w pierwszym okresie odchowu.
3. Metoda podawania siewczki siana z owsa nie wpłynęła na wskaźniki produkcyjne cieląt w okresie podawania pasz płynnych.
4. Podawanie siewczki siana z owsa do mieszanki treściwej starter spowodowało zmiany fermentacji w żwaczu, co wpłynęło pozytywnie na spożycie paszy stałej po zakończeniu podawania pasz płynnych.
5. Pasza strukturalna (siewczka słomy z pszenżyta lub siana z owsa) jako komponent mieszanki treściwej starter może być elementem profilaktyki podostrej kwasicy żwacza cieląt w pierwszym okresie odchowu.

## 8. Literatura

1. Antúnez-Tort, G., A. Bach, C. Cajarville, M. Vidal, F. Fàbregas, M. Ahangarani, and M. Terré. 2023. Benefits of barley straw as a forage for dairy calves before and after weaning. *J Dairy Sci* 106:7578–7590.
2. AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). 2010. *Official Methods of Analysis*, 18th edn, Vol. 2. Arlington, VA: AOAC.
3. Azevedo, R. A., C. F. A. Lage, B. F. Silper, H. C. Diniz Neto, J. D., Quigley, and S. G. Coelho. 2023. Invited review: Total solids concentration in milk or milk replacer for dairy calves. *J Dairy Sci* 106(11):7341-7351.
4. Bach, A., A. Gimenez, J. L. Juaristi, and J. Ahedo. 2007. Effects of physical form of a starter for dairy replacement calves on feed intake and performance. *J Dairy Sci* 90:3028–3033.
5. Bach, A., M. Terre, and M.A. Khan. 2017. Letter to the Editor: A response to Kertz (2017). Extension and clarification of a call for more complete reporting and evaluation of experimental methods, physical forms of starters, and results in calf research. *J Dairy Sci* 100:853-854.
6. Barszcz, M., M., Taciak, and J. Skomiał. 2011. A dose-response effect of tannic acid and protein on growth performance, caecal fermentation, colon morphology, and  $\beta$ -glucuronides activity of rats. *J Anim Feed Sci* 20: 613–625.
7. Beiranvand, H., G. R. Ghorbani, M. Khorvash, and M. Kazemi-Bonchenari. 2014a. Forage and sugar in dairy calves' starter diet and their interaction on performance, weaning age and rumen fermentation. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 98(3):439-445.
8. Beiranvand, H., G. R. Ghorbani, M. Khorvash, A. Nabipour, M. Dehghan-Banadaky, A. Homayouni, and S. Kargar. 2014b. Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *J Dairy Sci* 97(4):2270-2280.
9. Berends, H., H. van Laar, L. N. Leal, W. J. J. Gerrits, and J. Martin-Tereso. 2020. Effects of exchanging lactose for fat in milk replacer on ad libitum feed intake and growth performance in dairy calves. *J Dairy Sci* 103(5):4275-4287.

10. Biemann, V., J. Gillan, N. R. Perkins, A. L. Skidmore, S. Godden, and K. E. Leslie. 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J Dairy Sci* 93:3713–3721.
11. Chai, J., X. Lv, Q. Diao, H. Usdrowski, Y. Zhuang, W. Huang, K. Cui, and N. Zhang. 2021. Solid diet manipulates rumen epithelial microbiota and its interactions with host transcriptomic in young ruminants. *Environ Microbiol* 23(11):6557-6568.
12. Chapman, C. E., P. S. Erickson, J. D. Quigley, T. M. Hill, H. G. Bateman, 2nd, F. X. Suarez-Mena, and R. L. Schlotterbeck. 2016. Effect of milk replacer program on calf performance and digestion of nutrients with age of the dairy calf. *J Dairy Sci* 99(4):2740-2747.
13. Carter, B. G., N. Cheng, R. Kapoor, G. H. Meletharayil, and M. A. Drake. 2021. Invited review: Microfiltration-derived casein and whey proteins from milk. *J Dairy Sci* 104(3):2465-2479.
14. Castells, Ll., A. Bach, G. Araujo, C. Montoro, and M. Terre. 2012. Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *J Dairy Sci* 95:286–293.
15. Castells, L., A. Bach, A. Aris, and M. Terre. 2013. Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *J Dairy Sci* 96:5226–5236.
16. Cline, J. H., T. V. Hershberger, and O. G. Bentley. 1958. Utilization and/or synthesis of valeric acid during the digestion of glucose, starch, and cellulose by rumen microorganisms. *J Anim Sci* 17:284-292.
17. Costa, J. H. C., N. A. Adderley, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2016. Short communication: Effect of diet changes on sorting behavior of weaned dairy calves. *J Dairy Sci* 99:5635–5639.
18. Costa, A., A. Goi, M. Penasa, G. Nardino, L. Posenato, and M. De Marchi. 2021. Variation of immunoglobulins G, A, and M and bovine serum albumin concentration in Holstein cow colostrum. *Animal* 15(7):100299.
19. Coverdale, J. A., H. D. Tyler, J. D. Quigley, and J. A. Brumm. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *J Dairy Sci* 87:2554–2562.

20. Cui, Z., S. Wu, J. Li, Q. E. Yang, S. Chai, L. Wang, X. Wang, X. Zhang, S. Liu, and J. Yao. 2020. Effect of alfalfa hay and starter feeding intervention on gastrointestinal microbial community, growth, and immune performance of yak calves. *Front Microbiol* 11:994.
21. Davis, C. L., and J. K. Drackley. 1998. The development of nutrition and management of the young calf (p. 286). Iowa State University Press.
22. De Vries, A., and M. I. Marcondes. 2020. Review: Overview of factors affecting the productive lifespan of dairy cows. *Animal* 14(S1):155-164.
23. Dijkstra, J, H. Boer, J. van Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. *Br J Nutr* 69:385–396.
24. Directorate General for Agriculture and Rural Development. 2019. Short-term outlook for EU agricultural markets. number 22.
25. Drackley, J. K. 2008. Calf Nutrition from Birth to Breeding. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 24: 55–86.
26. Duncombe, W. G. 1964. The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clinica Chimica Acta* 9: 122–125.
27. Ebnali, A., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, A. H. Mahdavi, M. Malekkhahi, M. Mirzaei, A. Pezeshki, and M. H. Ghaffari. 2016. Effects of forage offering method on performance, rumen fermentation, nutrient digestibility, and nutritional behavior in Holstein dairy calves. *J Anim Physiol Anim Nutr* 100:820–827.
28. Ericsson, M., D. Hanstorp, P. Hagberg, J. Enger, and T. Nystrom. 2000. Sorting out bacterial viability with optical tweezers. *J Bacteriol* 182(19): 5551–5555.
29. Fritten, D., C. Gerbert, C. Koch, G. Dusel, K. Eder, A. Hoeflich, B. Mielenz, H. M. Hammon. 2018. Influence of ad libitum milk replacer feeding and butyrate supplementation on the systemic and hepatic insulin-like growth factor I and its binding proteins in Holstein calves. *J Dairy Sci* 101:1661–1672.
30. European Commission. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off. J. Eur. Comm.* Of 10 October 2010, L 276/33.

31. Fukami, R., N. Kobayashi, K. Murayama, M. Oba, and T. Sugino. 2025. Effects of fat content of high-protein milk replacer on intake and growth performance of Holstein calves in summer and winter. *J Dairy Sci* 108(6):5860-5874.
32. Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, M. Taciak, J. Komisarek, and W. Nowak. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062.
33. Gąsiorek, M., B. Stefańska, E. Pruszyńska-Oszmałek, J. Komisarek, and W. Nowak. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre- and post-weaning periods. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 106(1):33-44.
34. Gelsinger, S. L., W. K. Coblenz, G. I. Zanton, R. K. Ogden, and M. S. Akins. 2020. Physiological effects of starter-induced ruminal acidosis in calves before, during, and after weaning. *J Dairy Sci* 103(3):2762-2772.
35. Glamoclija, N., M. Starcevic, J. Ciric, D. Sefer, M. Glisic, M. Z. Baltic, R. Markovic, M. Spasic, and D. Glamoclija. 2018. The importance of triticale in animal nutrition. *VJRS* 15:73–94.
36. Groen, M. J., M. A. Steele, and T. J. DeVries. 2015. Short communication: Effect of straw inclusion rate in a dry total mixed ration on the behavior of weaned dairy calves. *J Dairy Sci* 98:2693–2700.
37. Hall, M. B. 2001. Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis. A laboratory manual. Pages V-1– V-9 in *Univ. Florida Bull.* 339. Dep. Anim. Sci., Inst. Food Agric. Sci., Gainesville, FL
38. Heinrichs, A. J., G. I. Zanton, G. J. Lascano, and C. M. Jones. 2017. A 100-Year Review: A century of dairy heifer research. *J Dairy Sci* 100(12):10173-10188.
39. Hibbs, J. W., W. D. Pounden, and H. R. Conrad. 1953. A high roughage system for raising calves based on the early development of rumen function. I. Effect of variations in the ratio on growth, feed consumption, and utilization. *J Dairy Sci* 36: 717–727.
40. Hill, T. M., H. G. Bateman, J. M. Aldrich, and R. L. Schlotterbeck. 2008a. Effects of feeding different carbohydrate sources and amounts to young calves. *J Dairy Sci* 91(8):3128-3137.

41. Hill, T. M., H. G. Bateman, J. M. Aldrich, and R. L. Schlotterbeck. 2008b. Effects of the amount of chopped hay or cottonseed hulls in a textured calf starter on young calf performance. *J Dairy Sci* 91(7):2684-2693.
42. Hill, T. M., H. G. B. Ii, J. M. A. Pas, and R. L. Schlotterbeck. 2009. Roughage for Diets Fed to Weaned Dairy Calves. *Prof Anim Sci* 25:283–288.
43. Hill, T. M., H. G. Bateman, P. A. S. J. M. Aldrich, and R. L. Schlotterbeck. 2010. Roughage amount, source, and processing for diets fed to weaned dairy calves. *Prof Anim Sci* 26:181–187.
44. Hill, T. M., H. G. Bateman II, J. M. Aldrich, and R. L. Schlotterbeck. 2012. Methods of reducing milk replacer to prepare dairy calves for weaning when large amounts of milk replacer have been fed. *Prof Anim Sci* 28:332–337.
45. Hill, T., T. Dennis, F. Suárez-Mena, J. Quigley, K. Aragona, and R. Schlotterbeck. 2019a. Effects of free-choice hay and straw bedding on the digestion of nutrients in 7-week-old Holstein calves. *Appl Anim Sci* 35:312–317.
46. Hill, T., F. Suárez-Mena, T. Dennis, J. Quigley, and R. Schlotterbeck. 2019b. Effects of free-choice hay on intake and growth of Holstein calves fed a textured starter to 2 months of age. *Appl Anim Sci* 35:161–168.
47. Hosseini, S. M., G. R. Ghorbani, and P. R. M. Khorvash. 2016. Determining optimum age of Holstein dairy calves when adding chopped alfalfa hay to meal starter diets based on measures of growth and performance. *Anim Int J Anim Biosci* 10:607.
48. Hu, W., T. M. Hill, T. S. Dennis, F. X. Suarez-Mena, K. M. Aragona, J. D. Quigley, and R. L. Schlotterbeck. 2020. Effects of milk replacer feeding rates on growth performance of Holstein dairy calves to 4 months of age, evaluated via a meta-analytical approach. *J Dairy Sci* 103(3):2217-2232.
49. Imani, M., M. Mirzaei, B. Baghbanzadehnohari, and M. H. Ghaffari. 2017. Effects of forage provision to dairy calves on growth performance and rumen fermentation: A meta-analysis and meta-regression. *J Dairy Sci* 100:1136–1150.
50. Iqbal, Z., M. A. Rashid, T. N. Pasha, and J. Ahmed. 2019. Effects of physical forms of total mixed rations on intake, weaning age, growth performance, and blood metabolites of crossbred dairy calves. *Animals* 9:495.

51. Jahanimoghadam, M., E. Mahjoubi, M. H. Yazdi, F. C. Cardoso, and J. K. Drackley. 2015. Effects of alfalfa hay and its physical form (chopped versus pelleted) on the performance of Holstein calves. *J Dairy Sci* 98:4055–4061.
52. Javani Javani, N., A. Riasi, E. Montazeri, S. Ansari Mahyari, and M. Choupani. 2023. Effect of shortening the dry period on colostrum and milk quality, blood parameters, and some reproductive parameters in high-producing Holstein cows of different body condition scores. *J Dairy Res* 90(4):347-352.
53. Jones, J. I., and D. R. Clemmons. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16:3–34.
54. Kehoe, S.I., K. A. Dill-McFarland, J. D. Breaker, and G. Suen. 2019. Effects of corn silage inclusion in preweaning calf diets. *J Dairy Sci* 102:4131–4137.
55. Kertz, A. F., T. M. Hill, J. D. Quigley, A. J. Heinrichs, J. G. Linn, and J. K. Drackley. 2017. A 100-Year Review: Calf nutrition and management. *J Dairy Sci* 100(12):10151-10172.
56. Kertz, A. F. 2023. Dairy calf feeding and nutrition major variables and subsequent performance. *Appl Anim Sci* 39:449–455.
57. Kessler, E. C., G. C. Pistol, R. M. Bruckmaier, and J. J. Gross. 2020. Pattern of milk yield and immunoglobulin concentration and factors associated with colostrum quality at the quarter level in dairy cows after parturition. *J Dairy Sci* 103(1):965-971.
58. Khan, M. A., H. J. Lee, W. S. Lee, H. S. Kim, S. B. Kim, S. B. Park, K. S. Baek, J. K. Ha, and Y. J. Choi. 2008. Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibility, and nitrogen utilization in Holstein calves. *J Dairy Sci* 91(3):1140-1149.
59. Khan, M. A., D. M. Weary, and M. A. G. von Keyerslingk. 2011. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *J Dairy Sci* 94:3547–3553.
60. Khan, M. A., A. Bach, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2016. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *J. Dairy Sci* 99:885–902.
61. Kononoff, P. J., A. J. Heinrichs, and D. R. Buckmaster. 2003. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator, and the effects of moisture content on its measurements. *J Dairy Sci* 86: 1858–1863.

62. Kim, Y. H., N. Toji, K. Kizaki, K. Takemura, S. Kushibiki, and S. Sato. 2019. Effects of ruminal pH on gene expression in the rumen epithelium, peripheral blood mononuclear cell subpopulations, and blood metabolites from Holstein calves during weaning transition. *J Vet Med Sci* 81(6):808-816.
63. Laarman, A. H., and M. Oba. 2011. Short communication: Effect of calf starter on rumen pH of Holstein dairy calves at weaning. *J Dairy Sci* 94:5661–5664.
64. Laarman, A. H., T. Sugino, and M. Oba. 2012. Effects of starch content of calf starter on growth and rumen pH in Holstein calves during the weaning transition. *J Dairy Sci* 95(8):4478-4487.
65. Leal, L. N., J. B. Daniel, J. Doelman, B. R. Keppler, M. A. Steele, and J. Martin-Tereso. 2025a. Effects of preweaning milk allowance on long-term metabolism in Holstein heifers. *J Dairy Sci* 108(5):4988-4999.
66. Leal, L. N., J. B. Daniel, J. Doelman, B. R. Keppler, M. A. Steele, and J. Martin-Tereso. 2025b. Preweaning nutrient supply improves lactation productivity and reduced the risk of culling in Holstein cows. *J Dairy Sci* 108(6):5875-5888.
67. Leibholz, J. 1975. Ground roughage in the diet of the early-weaned calf. *Anim Prod* 20:93–100.
68. Leonardi, C., and L. E. Armentano. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *J Dairy Sci.* 86:557–564.
69. Lin, L., F. Xie, D. Sun, J. Liu, W. Zhu, and S. Mao. 2019. Ruminal microbiome-host crosstalk stimulates the development of the ruminal epithelium in a lamb model. *Microbiome* 7(1):83.
70. Lin, X., Y. Wang, J. Wang, Q. Hou, Z. Hu, K. Shi, Z. Yan, and Z. Wang. 2018. Effect of initial time of forage supply on growth and rumen development in preweaning calves. *Anim Prod Sci* 58:2224–2232.
71. Maktabi, H., E. Ghasemi, and M. Khorvash. 2016. Effects of substituting grain with forage or nonforage fiber source on growth performance, rumen fermentation, and chewing activity of dairy calves. *Anim Feed Sci Technol* 221:70–78.
72. Mantysaari, P., J. Juga, M. H. Lidauer, J. Haggman, T. Mehtio, J. M. Christensen, and E. A. Mantysaari. 2022. The relationships between early lactation energy status indicators and endocrine fertility traits in dairy cows. *J Dairy Sci.* 105(8):6833-6844.

73. McCandlish, A.C. 1923. Studies in the Growth and Nutrition of Dairy Calves: VI. The Addition of Hay and Grain to a Milk Ration for Calves. *J Dairy Sci* 6:500–508.
74. McGavin, M. D., and J. L. Morrill. 1976. Scanning electron microscopy of ruminal papillae in fed various amounts and forms of roughage. *Amer J Vet Res* 37:497–508.
75. Meale, S. J., F. Chaucheyras-Durand, H. Berends, L. L. Guan, and M. A. Steele. 2017. From pre- to postweaning: Transformation of the young calf's gastrointestinal tract. *J Dairy Sci* 100:5984–5995.
76. Mellors, S. C., J. N. Wilms, A. C. Welboren, M. H. Ghaffari, L. N. Leal, J. Martin-Tereso, H. Sauerwein, and M. A. Steele. 2023. Gastrointestinal structure and function of preweaning dairy calves fed a whole milk powder or a milk replacer high in fat. *J Dairy Sci* 106(4):2408-2427.
77. Michałowski, T., H. Harmeyer, G. Breves. 1986. The passage of protozoa from the reticulorumen through the omasum of sheep. *Br J Nutr* 56:625–634.
78. Miller-Cushon, E. K., and T. J. DeVries. 2011. Effect of early feed type exposure on diet-selection behavior of dairy calves. *J Dairy Sci* 94:342–350.
79. Mirzaei, M., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. Kazemi-Bonchenari, A. Riasi, A. Nabipour, J. J. G. C. Borne. 2015. Effects of supplementation level and particle size of alfalfa hay on growth characteristics and rumen development in dairy calves. *J Anim Physiol Anim Nutr* 99:553–564.
80. Mirzaei, M., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. Kazemi-Bonchenari, A. Riasi, A. Soltani, B. Moshiri, and M. H. Ghaffari. 2016. Interactions between the physical form of starter (mashed versus textured) and corn silage provision on performance, rumen fermentation, and structural growth of Holstein calves. *J Anim Sci* 94: 678–686.
81. Mirzaei, M., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. Kazemi-Bonchenari, and M. H. Ghaffari. 2017. Growth performance, feeding behavior, and selected blood metabolites of Holstein dairy calves fed restricted amounts of milk: no interactions between sources of finely ground grain and forage provision. *J Dairy Sci* 100:1086–1094.
82. Mojahedi, S., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, E. Ghasemi, M. Mirzaei, and F. Hashemzadeh-Cigari. 2018. Performance, nutritional behavior, and metabolic

- responses of calves supplemented with forage depend on starch fermentability. *J Dairy Sci* 101:7061–7072.
83. Montoro, C., E. K. Miller-Cushon, T. J. DeVries, and A. Bach. 2013. Effect of physical form of forage on performance, feeding behavior, and digestibility of Holstein calves. *J Dairy Sci* 96:1117–1124.
  84. Movahedi, B., A. D. Foroozandeh, and P. Shakeri. 2017. Effects of different forage sources as a free-choice provision on the performance, nutrient digestibility, selected blood metabolites, and structural growth of Holstein dairy calves. *J Anim Physiol Anim Nutr* 101:293–301.
  85. Murray, C. F., M. C. Windeyer, T. F. Duffield, D. B. Haley, D. L. Pearl, K. M. Waalderbos, and K. E. Leslie. 2014. Associations of serum haptoglobin in newborn dairy calves with health, growth, and mortality up to 4 months of age. *J Dairy Sci* 97(12):7844-7855.
  86. NASEM (National Academies of Science, Engineering, and Medicine). 2021. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th rev. ed. National Academies Press, Washington, DC.
  87. Nemati, M., H. Amanlou, M. Khorvash, M. Mirzaei, B. Moshiri, and M. H. Ghaffari. 2016. Effect of different alfalfa hay levels on growth performance, rumen fermentation, and structural growth of Holstein dairy calves. *J Anim Sci* 94:1141–1148.
  88. Nocek, J. E., and Kesler, E. M. 1980. Growth and rumen characteristics of Holstein steers fed pelleted or conventional diets. *J Dairy Sci* 63:249–254.
  89. NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
  90. Omid-Mirzaei, H., A. Azarfar, M. Mirzaei, A. Kiani, and M. H. Ghaffari. 2018. Effects of forage source and forage particle size as a free-choice provision on growth performance, rumen fermentation, and behavior of dairy calves fed texturized starters. *J Dairy Sci* 101:4143–4157.
  91. Orellana Rivas, R. M., G. H. Komori, V. V. Beihling, T. N. Marins, J. K. Bernard, and S. Tao. 2020. Effects of milk replacer feeding levels on performance and metabolism of preweaned dairy calves during summer. *J Dairy Sci* 103(1):313-324.

92. Overvest, M. A., R. Bergeron, D. B. Haley, and T. J. Devries. 2015. Effect of feed type and method of presentation on feeding behavior, intake, and growth of dairy calves fed a high level of milk. *J Dairy Sci* 99:317–327.
93. Penner, G. B., M. Taniguchi, L. L. Guan, K. A. Beauchemin, and M. Oba. 2009. Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue. *J Dairy Sci* 92:2767–2781.
94. PFHBiPM (Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka). 2025. Ocena i hodowla bydła mlecznego. Dane za rok 2024.
95. Pouden, W. D., J. W. Hibbs, and C. R. Cole. 1951. Observations on the relation of diet to diarrhea in young dairy calves. *J Am Vet Med Assoc* 118(891):400-403.
96. Quigley, J. D., L. A. Caldwell, G. D. Sinks, and R. N. Heitmann. 1991a. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. *J Dairy Sci* 74(1):250-257.
97. Quigley, J. D., Z. P. Smith, and R. N. Heitmann. 1991b. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. *J Dairy Sci* 74(1):258-263.
98. Quigley, J. D., T. M. Steen, and S. I. Boehms. 1992. Postprandial changes of selected blood and ruminal metabolites in ruminating calves fed diets with or without hay. *J Dairy Sci* 75(1):228-235.
99. Quigley, J. D., C. J. Kost, and T. M. Wolfe. 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *J Dairy Sci* 85:1243–1248.
100. Quigley, J. D. 2024. Invited review: An evaluation of EFSA opinion on calf welfare from a nutritional and management perspective. *J Dairy Sci* 107(10):7483-7503.
101. Ravelo, A. D., B. Calvo Agostinho, J. Arce-Cordero, H. F. Monterio, S. L. Bennet, E. Sarmikasoglou, J. Vinyard, E. R. Q. Vieira, R. R. Lobo, L. F. Ferraretto, D. Vyas, and A. Faciola. 2022. Effects of partially replacing dietary corn with molasses, condensed whey permeate, or treated condensed whey permeate on ruminal microbial fermentation. *J Dairy Sci* 105(3):2215-2227.
102. SAS Institute. 2014. SAS/STAT user's guide. Version 9.4. SAS. Institute Inc.

103. Stefańska, B., J. Komisarek, D. Stanisławski, M. Gąsiorek, M. Kasprowicz-Potocka, A. Frankiewicz, and W. Nowak. 2018. The effect of *Yarrowia lipolytica* culture on growth performance, ruminal fermentation, and blood parameters of dairy calves. *Anim Feed Sci Technol* 243:72-79.
104. Stefańska, B., M. Gąsiorek, J. Kański, J. Komisarek, and W. Nowak. 2019. Short communication: Comparison of pH, volatile fatty acids, and ammonia in preweaning and postweaning ruminal fluid samples obtained via rumenocentesis and stomach tube from dairy calves. *Livest Sci* 203:103822.
105. Stefanska, B., M. Gasiorek, and W. Nowak. 2021a. Short-and long-term effects of initial serum total protein, average starter feed intake during the last week of the preweaning period, and rearing body gain on primiparous dairy heifer's performance. *J Dairy Sci* 104(2):1645-1659.
106. Stefańska, B., J. Sroka, F. Katzer, P. Goliński, and W. Nowak. 2021b. The effect of probiotics, phytobiotics, and their combination as feed additives in the diet of dairy calves on performance, rumen fermentation, and blood metabolites during the preweaning period. *Anim Feed Sci Technol* 272: 114738.
107. Stefańska, B., F. Katzer, B. Golinska, P. Sobolewska, S. Smulski, A. Frankiewicz, and W. Nowak. 2022. Different methods of eubiotic feed additive provision affect the health, performance, fermentation, and metabolic status of dairy calves during the preweaning period. *BMC Vet Res* 18(1):138.
108. Stobo, I. J. F., J. H. B. Roy, and J. Gaston. 1966. Rumen development in the calf: II. The effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on digestive efficiency. *Br J Nutr* 20(2):189-215.
109. Suarez, B. J., C. G. Van Reenen, G. Beldman, J. van Delen, J. Dijkstra, and W. J. J. Gerrits. 2006a. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. Animal performance and rumen fermentation characteristics. *J Dairy Sci* 89:4365–4375.
110. Suarez, B. J., C. G. Van Reenen, W. J. J. Gerrits, N. Stockhofe, A. M. van Vuuren, and J. Dijkstra. 2006b. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. *J Dairy Sci* 89:4376–4386.


111. Suarez, B., C. Van Reenen, N. Stockhofe, J. Dijkstra, and W. Gerrits. 2007. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *J Dairy Sci* 90:2390–2403.
112. Suarez-Mena, F. X., G. J. Lascano, D. E. Rico, and A. J. Heinrichs. 2015. Effect of forage level and replacing canola meal with dry distillers grains with solubles in precision-fed heifer diets: Digestibility and rumen fermentation. *J Dairy Sci* 98(11):8054-8065.
113. Suarez-Mena, F. X., T. S. Dennis, K. M. Aragona, T. M. Hill, J. D. Quigley, and R. L. Schlotterbeck. 2021. Effects of feeding milk replacer at a moderate rate, ad libitum, or with a step-up program on Holstein calf growth performance to 4 months of age. *J Dairy Sci* 104(7):7738-7748.
114. Sutton, J. D., A. D. McGilliard, and N. L. Jacobson. 1963. Functional development of rumen mucosa. I. Absorptive ability. *J Dairy Sci* 46:426–436.
115. Tamate, H., A. D. McGilliard, N. L. Jacobson, and R. Getty. 1962. Effect of Various Diets on the Anatomical Development of the Stomach in the Calf. *J Dairy Sci* 45: 408–420.
116. Terre, M., E. Pedrals, A. Dalmau, and A. Bach. 2013. What do preweaned and weaned calves need in the diet: a high fiber content or a forage source? *J Dairy Sci* 96:5217–5225.
117. Terre, M., L. Castells, M. A. Khan, and A. Bach. 2015. Interaction between the physical form of the starter feed and straw provision on growth performance of Holstein calves. *J Dairy Sci* 98:1101–1109.
118. USDA (United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service). 2019. EU-28: Grain and Feed Annual.
119. van Ackeren, C, H. Steingäß, K. Hartung, R. Funk, and W. Drochner. 2009. Effect of roughage level in a total mixed ration on feed intake, ruminal fermentation patterns, and chewing activity of early-weaned calves with ad libitum access to grass hay. *Anim Feed Sci Technol* 153:48–59.
120. van Niekerk, J. K., A. J. Fischer-Tlustos, J. N. Wilms, K. S. Hare, A. C. Welboren, A. J. Lopez, T. T. Yohe, L. R. Cangiano, L. N. Leal, and M. A. Steele. 2021. ADSA Foundation Scholar Award: New frontiers in calf and heifer nutrition-From conception to puberty. *J Dairy Sci* 104(8):8341-8362.

121. van Soest, P. J., J. B., Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74: 3583–3597.
122. Vossebeld, F., A. T. M. van Knegsel, and E. Saccenti. 2022. Phenotyping metabolic status of dairy cows using clustering of time profiles of energy balance peripartum. *J Dairy Sci* 105(5):4565-4580.
123. Wang, Y., E. Saccenti, R. Goselink, E. Burgers, J. Gross, R. Bruckmaier, B. Kemp, and A. van Knegsel. 2025. Investigating the relationship between dairy dam preconception and gestation characteristics and heifer offspring variables from birth to lactation. *J Dairy Sci* 108(7):7758-7774.
124. Warner, R. G., W. P. Flatt, and J. K. Loosli. 1956. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *J Agric Food Chem* 4:788–792.
125. Welboren, A. C., J. Van Baal, M. H. Ghaffari, H. Sauerwein, J. B. Renaud, J. Martin-Tereso, M. A. Steele, and L. N. Leal. 2023. Gastrointestinal permeability and inflammatory status of preweaning dairy calves in response to decreasing the ratio of n-6 to n-3 fatty acid in milk replacer. *J Dairy Sci* 106(5):3662-3679.
126. Welk, A., N. D. Otten, and M. B. Jensen. 2023. Invited review: The effect of milk feeding practices on dairy calf behavior, health, and performance: A systematic review. *J Dairy Sci* 106(9):5853-5879.
127. Wilms, J. N., M. H. Ghaffari, M. A. Steele, H. Sauerwein, J. Martin-Tereso, and L. N. Leal. 2022. Macronutrient profile in milk replacer or a whole milk powder modulates growth performance, feeding behavior, and blood metabolites in ad libitum-fed calves. *J Dairy Sci* 105(8):6670-6692.
128. Wilms, J. N., M. H. Ghaffari, P. S. Darani, M. Jansen, H. Sauerwein, M. A. Steele, J. Martin-Tereso, and L. N. Leal. 2024. Postprandial metabolism and gut permeability in calves fed milk replacer with different macronutrient profiles or a whole milk powder. *J Dairy Sci* 107(1):184-201.
129. Wilms, J. N., S. Hendriks, T. Sugino, M. H. Ghaffari, M. A. Steele, H. Sauerwein, J. Martin-Tereso, and L. N. Leal. 2025. Inclusion of a spray-dried fat concentrate containing tributyrin and tricaproin in milk replacer enhanced increased feed intake, growth, and elicited metabolic and endocrine responses in ad libitum-fed calves. *J Dairy Sci* 108(9):9395-9418.

130. Wu, Z., A. Azarfar, A. Simayi, S. Li, A. Jonker, and Z. Cao. 2018. Effects of forage type and age at which forage provision is started on growth performance, rumen fermentation, blood metabolites, and intestinal enzymes in Holstein calves. *Anim Prod Sci* 58:2288–2299.
131. Xiao, J., G. M. Alugongo, J. Li, Y. Wang, S. Li, and Z. Cao. 2020. Review: How Forage Feeding Early in Life Influences the Growth Rate, Ruminal Environment, and the Establishment of Feeding Behavior in Pre-Weaned Calves. *Animals (Basel)* 10(2):188.
132. Xiao, J., T. Chen, R. Peng, G. M. Alugongo, H. Yang, M. Z. Khan, S. Liu, Y. Ma, J. Wang, W. Wang, Y. Wang, S. Li, and Z. Cao. 2023. The age at first consumption of forage in calves and its effect on growth and rumination in the short- and long-term. *J Anim Sci Biotechnol* 14:107.
133. Yang, B., J. Le, P. Wu, J. Liu, L. L. Guan, and J. Wang. 2018. Alfalfa Intervention Alters Rumen Microbial Community Development in Hu Lambs During Early Life. *Front Microbiol* 9:574.
134. Yellow, R. S., and S. A. Berson. 1960. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 39:1157-1175.
135. Zened, A., C. Julien, L. Cauquil, G. Pascal, C. Canlet, M. Tremblay-Franco, D. Ali-Haimoud-Lekhal, F. Enjalbert, C. Bayourthe, and S. Combes. 2024. Milk replacer feeding once or twice a day did not change the ruminal metabolomic profile and the microbial diversity of dairy calves from birth to weaning. *J Dairy Sci* 107(8):5574-5586.
136. Zhang, J., J. Shang, Y. Hao, Y. Wang, Z. Cao, H. Yang, W. Wang, and S. Li. 2023. Growth performance, blood metabolites, ruminal fermentation, and bacterial community in preweaning dairy calves fed corn silage-included starter and total mixed ration. *J. Dairy Sci* 106:4545–4558.
137. Zhang, J., C. Zhang, X. Yang, L. Li, Y. Cao, X. Zhang, S. Zhou, J. Ma, M. Li, X. Hou, Z. Zhang, and J. Yao. 2024. Short- and long-term effects of different forage types supplemented in preweaning dairy calves on performance and milk production into the first lactation. *J Dairy Sci* 107(9):7405-7422.
138. Zou, Y., X. Zou, X. Li, G. Guo, P. Ji, Y. Wang, S. Li, Y. Wang, and Z. Cao. 2018. Substituting oat hay or maize silage for a portion of alfalfa hay affects

growth performance, ruminal fermentation, and nutrient digestibility of weaned calves. *Asian-Australas J Anim Sci* 31:369–378.

# Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre- and post-weaning periods

Michał Gašiorek<sup>1</sup> | Barbara Stefańska<sup>1,2</sup>  | Ewa Pruszyńska-Oszmałek<sup>3</sup> |  
Jolanta Komisarek<sup>4</sup> | Włodzimierz Nowak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Nutrition, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland

<sup>2</sup>Department of Grassland and Natural Landscape Sciences, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland

<sup>3</sup>Department of Animal Physiology, Biochemistry and Biostructure, Poznań University of Life Science, Poznań, Poland

<sup>4</sup>Department of Animal Breeding and Product Quality Assessment, Poznań University of Life Sciences, Suchy Las, Poland

## Correspondence

Barbara Stefańska, Department of Grassland and Natural Landscape Sciences, Department of Animal Nutrition, Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego 28, Poznań 60-637, Poland.  
Email: barbara.stefanska@up.poznan.pl

## Funding information

This study was supported by grant no. 62/2015/U financed by AGROPOL, Września; Poland

## Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of the inclusion of chopped straw into a diet with pelleted starter feed on starter intake, growth performance, fermentation and blood metabolites of dairy calves during the pre- and post-weaning periods. Forty-four Holstein-Friesian female dairy calves were randomly assigned to four treatments: control (CON, starter without straw;  $n = 11$ ), low straw (LS, starter feed containing 10% dry matter basis straw;  $n = 11$ ), medium straw (MS, starter feed containing 15% dry matter basis straw;  $n = 11$ ) and high straw (HS, starter feed containing 20% dry matter basis straw;  $n = 11$ ). Starter intake and total dry matter intake were recorded daily, and bodyweight weekly until 84 days of age. The highest starter intake and total dry matter intake were noted in the LS and MS treatments during the post-weaning, and overall experiment periods. Also, the average daily gain was greater during the pre-weaning period for LS and MS than HS. Increasing chopped straw content in the starter feeds from 0% to 15% increased ruminal pH, especially at day 28, and molar concentration of acetate, and decreased concentrations of total volatile fatty acids and propionate throughout the trial. Concentrations of butyrate in the rumen were lower at day 28, and higher at day 56 and 84 in straw-supplemented calves compared to the CON treatment. Increasing chopped straw content in the starters feeds from 0% to 15% increased the total counts of bacteria and protozoa, but then this counts decreased with the content of 20% chopped straw. In conclusion, the inclusion of chopped triticale straw from 10% to 15% in the diet with pelleted starter feed can improve performance, and rumen fermentation in calves; however, increasing the dietary inclusion of straw to 20% can negatively affect growth performance.

## KEYWORDS

calf rearing, chopped straw, forage provision, pelleted starter, solid feed, straw level

## 1 | INTRODUCTION

Growth performance of dairy calves in early life is improved with adequate starter intake, which is crucial for reticulorumen development and allows calves to maintain bodyweight (BW) gain through

the transition from liquid to solid feed. Current feeding strategies for dairy calves are based on a balance between liquid and solid feed intakes, taking into account the differences in intestinal carbohydrate metabolism—stimulation of the tissues to transition from the use of glucose in whole milk or milk replacer to the use of volatile

fatty acids (VFA) from starter feed as the primary energy substrates (Montoro et al., 2013). Therefore, new studies of rumen development have been undertaken in recent years, with specific attention to the modulation of ruminal function and fermentation processes in response to high levels of fermentable carbohydrates in calf diets. Recently, research has been focussed on forage provision to young calves, although published results are not conclusive. Some studies have determined a positive impact of forage provided in starter feed on rumen fermentation (Hosseinia et al., 2019; Terre et al., 2013), increased ruminal fluid pH (Laarman & Oba, 2011), rumen muscularization, feed consumption and growth performance (Beiranvand et al., 2014; Gasiorek et al., 2020). Another study focussed on the limitations of starter feed with forage, because, in the pre-weaning period, cellulolytic activity is not completely acquired until 3 to 4 weeks after birth (Anderson et al., 1987), which may affect digestibility and thus the accumulation of undigested forage material and indirectly delay rumen development (Hill et al., 2012). In the literature, there are reports of testing on different physical forms of starter feeds (meal, pelleted, texturized), chop lengths (Montoro et al., 2013), provision methods (Gasiorek et al., 2020) and concentrate-to-forage ratios (Groen et al., 2015). Also, there are published results of verification on different forage sources such as alfalfa hay, grass hay, oat hay, fresh silage, corn silage, wheat straw and barley straw (Omid-Mirzaei et al., 2018; Terre et al., 2015). However, there is no scientific evidence that supports the use of triticale straw as a forage source for dairy calf diets. Triticale used as livestock feed for ruminants and may be used in all its forms such as grain, forage, silage, hay and straw (Glamoclija et al., 2018). In addition, continuously increasing high temperatures in the northern part of Europe (DG Agriculture & Rural Development, 2019) effects that due to its drought tolerance triticale is a crop of interest as a feed component for ruminants. Also, the fact of great interest in triticale is confirmed by the structure of crops, where Poland followed by Germany and France is the main producing countries (USDA, 2019).

It is commonly known that textures forms of starter (containing steam-flaked grains combined with a pelleted supplement) lead to the better rumen development and performance than pelleted starter feed (Hill et al., 2012). However, textured calf starter feed usually has a higher cost than pelleted starter for dairy producers. An alternative to avoid abnormal rumen development without using a textured starter feed could be to offer a pelleted starter feed along with chopped forage (Terre et al., 2015). Also, differences in the forage type led to varying results. Chopped straw was reported to be more effective than legume hay (such as chopped alfalfa hay) in improving total dry matter intake and average daily gain of dairy calves in the pre-weaning and post-weaning periods (Castells et al., 2013; Hosseinia et al., 2019). Also, Pavlata et al., (2017) concluded that feeding of starter feed with chopped straw compared with the pelleted starter feed led to better development of the rumen fermentation evaluated by rumen pH, by total volatile fatty acids production, and by the proportion and ratio of acetic and propionic acids lead to reduce the occurrence of subacute ruminal acidosis in the weaned calves. However, there is no conclusive information on

the optimum forage level, especially when chopped triticale straw is used as the feed component in starter feed, in terms of its impact on productive performance and rumen fermentation, especially for pre-weaning dairy calves.

It is commonly reported that dairy cows sort TMR, selecting in favour of short particles and against long particles (Miller-Cushon & DeVries, 2009). Selection in favour of the short particle fraction is likely due to the concentration of highly palatable grain in this particle fraction (DeVries & von Keyserlingk, 2009), as well as the greater rate at which cattle can ingest small particles compared with large forage particles (Campling & Morgan, 1981). Also, dairy calves actively sort starter feed blended with forage (Miller-Cushon et al., 2013). When provided forage and concentrate as a blended ration, calves have been reported to sort in favour of the concentrate component (Miller-Cushon & DeVries, 2011), a pattern of feed sorting similar to that seen in adult cattle (Leonardi & Armentano, 2003). Several factors influence feed preference such as feeding frequency (DeVries et al., 2005), higher/lower amount of feed provision (Greter & DeVries, 2011), forage level and particle size (Leonardi & Armentano, 2003), and level of dietary moisture (Leonardi et al., 2005). However, little work has examined factors that may influence the feed sorting of young calves. Also, little is known about the use of chopped triticale as a forage source blended with pelleted starter feed fed to dairy calves can influence sorting activity.

Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of the inclusion of different levels of chopped straw into diets with pelleted starter feed on sorting activity, starter intake, growth performance, fermentation and blood metabolites of dairy calves during the pre- and post-weaning periods. We hypothesized that providing pelleted starter feed containing chopped straw might improve performance, and subsequently the rumen environment and blood metabolites of dairy calves during pre- and post-weaning periods.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Animals, treatments and management

Forty-four female Holstein-Friesian dairy calves (3 days of age;  $39.6 \pm 0.39$  kg BW), all obtained from a single farm, were grouped according to parity (22 born from primiparous cows and 22 born from multiparous cows) and assigned randomly to four treatments lasting the first 84 days of life: CON (control, without straw;  $n = 11$ ), LS (low straw, starter feed containing 10% dry matter (DM) basis straw;  $n = 11$ ), MS (medium straw, starter feed containing 15% DM basis straw;  $n = 11$ ) and HS (high straw, starter feed containing 20% DM basis straw;  $n = 11$ ). Calves were separated from their mothers within 2 h of birth and then moved to a naturally ventilated barn with individual pens (2.9 m  $\times$  1.1 m  $\times$  1.8 m; length  $\times$  width  $\times$  height) for the duration of the trial. Calves were kept in pens with wood sawdust bedding. The pens were refreshed every day, and manure was removed daily to keep the pens visibly clean and dry. Physical contact between animals was minimized

by the pen arrangement. In the first 24 h of life, calves received 4 L colostrum from mother in two equal feedings (<2 h and <12 h after birth) by a stomach tube with a manual vacuum pump. On days 2 and 3, calves were fed transition milk (4 L/day divided into 2 equal feedings) at 9:00 AM and 5:00 PM. Between 24 and 48 h after birth, blood samples were drawn to determine the passive transfer of immunity through measurement of total serum protein concentration (no. T7528, Pointe Scientific, Warsaw, Poland). In all treatments, total serum protein concentration was  $>6.0$  g/dl  $\pm 0.06$  ( $p > 0.05$ ), indicating an adequate passive transfer of immunity (Quigley et al., 2002). Next, the calves received 6 L/day of reconstituted milk replacer (21% CP and 18% ether extract on a DM basis, 150 g powder as feed/L, Polmass, Bydgoszcz, Poland) in 3 feedings at 6:00 AM, 2:00 PM, 8:00 PM until 49 days of age. From 50 to 56 day of age, calves were fed 2 L/day of milk replacer in one feeding at 6:00 AM. All calves consumed the same daily allowance of milk replacer. Throughout the experiment, animals had constant access to freshwater. The starter feeds were isonitrogenous (20% CP on a DM basis), and formulated according to National Research Council guidelines (NRC, 2001). The triticale straw was chopped to obtain the mean particle size of  $2\text{ cm} \pm 0.5$  in length, using a harvesting machine with the screen-size regulator (John Deere 7400). Also, pelleted starter feeds (from day 4 to 84, Holagra) were delivered every morning at 10:00 AM and offered ad libitum to permit at least up to 10% refusals (i.e. the portion of the starter not consumed over a 24 h period), which were collected and weighed daily for each the individual calf. Throughout the experiment, 12 representative samples of the starter feeds from each treatment were collected weekly for determination of nutritional composition according to Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2010) procedures: DM (method no. 934.01); ether extract (EE; method no. 973.18; SoxhletSystem HT analyser); CP (method no. 976.05; Kjeld-Foss Automatic 16210 analyser) and ADF (method no. 973.18). The NDF (expressed inclusive of residual ash) was determined by the method of Van Soest et al., (1991). The non-fibrous carbohydrate (NFC) was calculated as  $100 - (\text{CP} + \text{NDF} + \text{EE} + \text{Ash})$  (NRC, 2001). Starch content of the starter feeds was determined according to the procedure of Hall (2001). The concentrations of macroelements were measured by inductive emission (ICP-OES) in an Optima 2000 DV spectrophotometer. The chemical composition and nutritional value of experimental starter feeds are shown in Table 1. The starter diets with a similar level of crude protein, contained, respectively, 0%, 10%, 15%, 20% of straw for CON, LS, MS and HS and differing in the contents of NDF (17.8%, 21.3%, 27.4%, 30.5% on DM basis), and starch (43.7%, 38.2%, 34.4%, 30.9% on DM basis). The inter- and intra-assay variation was controlled by limiting the coefficient of variation to  $\leq 5\%$  for all nutrition compounds variables.

The particle size distribution of chopped straw, starter feeds with straw, and orts samples were collected weekly from each treatment and separated using a 4-screen Penn State Particle Separator (PSPS, The Pennsylvania State University, University Park; Kononoff et al., 2003). The sorting index in the starter feeds was calculated as

TABLE 1 Ingredients, chemical composition of starter feeds

Item	Treatment <sup>1</sup>				Triticale straw <sup>2</sup>
	CON	LS	MS	HS	
Ingredient (% DM)					
Soybean ground, 46% CP	18	22	23	23.8	-
Wheat bran	20	17	16	15	-
Barley ground	20	16.5	14.5	14.5	-
Wheat ground	21.5	15	15	15	-
Corn ground	19	18	15	10.2	-
Triticale straw	-	10	15	20	-
Vitamin and mineral premix <sup>3</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5	-
Nutritional value (% DM)					
Crude Protein	19.9	20.2	20.2	20.1	3.5
NDF	17.8	21.3	27.4	30.5	79.8
ADF	8.1	10.5	12.6	14.4	50.6
NFC	53.3	49.4	43.2	40.1	8.7
Starch	43.7	38.2	34.4	30.9	0.7
Ether Extract	2.5	2.5	2.5	2.5	1.6
Ash	6.5	6.6	6.7	6.8	6.4
Ca	0.91	0.92	0.93	0.93	0.31
P	0.76	0.77	0.78	0.79	0.1
Na	0.15	0.15	0.15	0.15	0.12
Mg	0.3	0.3	0.31	0.31	0.14

<sup>1</sup>Treatment: CON (control, without straw,  $n = 11$ ), LS (low straw: starter feed containing 10% DM basis straw,  $n = 11$ ), MS (medium straw: starter feed containing 15% DM basis straw,  $n = 11$ ), HS (high straw: starter feed containing 20% DM basis straw,  $n = 11$ ).

<sup>2</sup>Triticale straw: the particle size distribution of forage: 26% long (>19 mm) particles, 25.2% medium (8–19 mm) particles, 47.8% short (1.18–8 mm) particles, and 1% at the bottom pan.

<sup>3</sup>Vitamin and mineral premix contained per kg of supplement: 250,000 IU of vitamin A, 50,000 IU of vitamin D, 1,500 IU of vitamin E, 2.25 g of Mn, 120 g of Ca, 7.7 g of Zn, 20 g of P, 20.5 g of Mg, 186 g of Na, 1.25 g of Fe, 3 g of S, 14 mg of Co, 1.25 g of Cu, 56 mg of I, and 10 mg of Se.

the ratio of actual intake to expected intake for particles retained on each sieve of the PSPS (Leonardi & Armentano, 2003). The predicted intake of an individual fraction was computed as the product of the DMI of the total starter feeds multiplied by the DM percentages of that fraction in the starter feeds. Values equal to 100% indicate no sorting, <100% indicates selective orts (sorting against), and >100% indicates preferential consumption. To test whether calves were sorting the diet for each particle size fraction, 1 sorting value was generated individually per calf in a treatment per week. Values for sorting were tested for potential differences from 100% subjected to ANOVA and Duncan's tests.

## 2.2 | Productive performance

Throughout the experimental period, calves were weighed on day 3 and then weekly before morning feeding using an electronic scale. Individual intakes of starter feed (with and without chopped straw) were measured daily. The total dry matter intake (TDMI; from milk replacer and starter feed), average daily gain (ADG; the difference between final and initial BW divided by the number of days), and feed efficiency (FE; AGD kg/day divided by TDMI kg/day) were calculated for the pre-weaning (from day 3 to 56), post-weaning (from day 57 to 84) and overall (from day 3 to 84) experimental periods. Biometric measurements of the calves were recorded on day 3 and then weekly, including heart girth (HG; circumference of the chest), and hip height (HH; distance from the base of the rear feet to hook bones). Throughout the experimental period, calf health was monitored daily by a veterinarian unaware of the diets. Calves with diarrhoea or pneumonia were treated with standard procedures prescribed by the veterinarian. Calves in general were healthy, and no animal died during the study period.

## 2.3 | Ruminal fluid sampling and analysis

Ruminal fluid (approximately 150 ml) was sampled through a stomach tube with a manual vacuum pump at 2:00 PM ( $\pm 30$  min; 4 h post-starter feeding) on day 28, 56 and 84, and filtered through four layers of cheesecloth (Stefańska et al., 2018). To prevent saliva and cross-contaminations, the first 100 ml of each sample was discarded and stomach tubes were washed with warm water between collections. The pH of ruminal fluid was measured with a CP-104 pH-meter immediately after sampling (Elmentron). Ruminal fluid samples were then divided into three parts. The first part was used for the analysis of VFA concentrations such as acetate, propionate, *n*-butyrate, *iso*-butyrate, *n*-valerate, *iso*-valerate by gas chromatography (HP 5890 series II GC, Hewlett-Packard) and the second was used for  $\text{NH}_3$ -N measurement by spectrophotometer (Marcel Media) as described in detail by Stefańska et al. (2018). The last part of the ruminal fluid sample was used for microscopic analysis (Zeiss, type Primo Star no. 5) of total protozoa according to the methodology described by Michałowski et al. (1986). Moreover, the total count of bacteria was determined in a Thoma chamber (Blau Brand) according to the method described by Ericsson et al. (2000).

## 2.4 | Blood sampling and analyses

Blood was sampled from the jugular vein at 2:00 PM ( $\pm 30$  min; 4 h post-starter feeding) on day 1, 28, 56 and 84 of life. The samples were collected into tubes with polystyrene separating granules covered with a clot activator and transported to the laboratory, where they were centrifuged for serum at  $3000 \times g$  for 15 min. The serum was partitioned into aliquots and stored at  $-20^\circ\text{C}$  for further analyses of

total protein (no. T7528), blood urea nitrogen (BUN; no. B7552) and  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA; no. H7587-58) concentrations using the colourimetric method and Pointe Scientific reagent kits. The serum samples were diluted initially at a ratio of 1:1 and analysed in duplicate and absorbance values were read at 450 nm for total protein and BUN, and 505 nm for BHBA. Concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) were analysed according to Duncombe's colourimetric method (Duncombe, 1964), and absorbance was measured at 440 nm. Serum insulin-like growth factor-I (IGF-I; no. DSL-2800, Diagnostic Systems Laboratories) was analysed with a radioimmunoassay method using an Automatic Gamma radiation reader (Gamma Counter 1470, PerkinElmer).

## 2.5 | Statistical analysis

Results were statistically analysed using SAS version 9.4 (Institute Inc., 2014). Before analyses, all data were screened for normality with PROC UNIVARIATE procedures. The total counts of bacteria and protozoa were transformed before statistical analysis using a logistic transformation function. The feed intake and growth performance data were analysed using the MIXED procedure with repeated measurements separately for three discrete periods, that is, the pre-weaning (from day 3 to 56), post-weaning (from day 57 to 84) and the overall experimental period (from day 3 to 84), using the following model:  $Y_{ijklm} = \mu + \text{Calf}_i + \text{Treatment}_j + \text{Period}_k + (\text{Treatment} \times \text{Period})_{kj} + E_{ijkl} + e_{ijklm}$ , where:  $Y_{ijklm}$  – the dependent variable,  $\mu$  – average experimental value,  $\text{Calf}_i$  – the random effect of the calf (as an experimental unit) and as a random error with mean 0 and calf variance, that is the variance between calves within the treatment and equal to the covariance between repeated measurements within calves;  $\text{Treatment}_j$  – the fixed effect of treatment ( $j = \text{CON, LS, MS, or HS}$ ),  $\text{Period}_k$  – the fixed effect of 14-days measurement period for all variables ( $k = \text{number of 14-days measurement periods}$ ),  $(\text{Treatment} \times \text{Period})_{jk}$  – represent the effect of the interaction between treatment and period,  $E_{ijkl}$  – the sampling error, and  $e_{ijklm}$  – is the error term. In the MIXED model mentioned earlier, the effects of treatment, period and treatment by period interaction were considered as fixed effects and calf as a random effect. Various covariance structures (including CS, Simple, UN, TOEP, AR (1), ARH (1) and ANTE (1)) were tested to find the best-fitted structure for the model. The measurement period (14-day period) was modelled as a repeated measurement using the compound symmetry as the covariance structure on the basis of best fit determined by the lowest Bayesian information criterion. The born time and initial bodyweight were tested as a covariate in the model but were not statistically significant (respectively  $p > 0.15$  and  $p > 0.24$ ) and, therefore, was eliminated from the model. In cases of significant treatment, individual comparisons were made using a Duncan's adjustment. Statistical significance was declared when  $p \leq 0.05$ , and trends were indicated when  $0.05 < p \leq 0.1$ .

Data on bodyweight, hip height, heart girth, rumen fermentation and biochemical blood indices were subjected to ANOVA according

to the following model:  $Y_{ij} = \mu + \text{Treatment}_i + e_j$  where:  $Y_{ij}$ —the dependent variable;  $\mu$ —the average experimental value;  $\text{Treatment}_i$ —the effect of treatment (I = CON, LS, MS, or HS);  $e_j$ —is the error term.

### 3 | RESULTS

#### 3.1 | Particle size distribution, and sorting index

The particle size distribution of starter feeds, orts and sorting index is shown in Table 2. The greater ( $p \leq 0.05$ ) percentages of particles orts retained on the second sieve (8–19 mm) for HS, and on the third sieve (1.18–8 mm) for LS were observed. The use of pelleted starter

TABLE 2 Particle size distribution of starter feeds, orts and sorting index

Item	Treatment <sup>1</sup>			SEM	p-value
	LS	MS	HS		
Particle size starter feeds <sup>2</sup> (% DM)					
Sieve 19 mm	0.2	0.4	1	0.02	0.42
Sieve 8 mm	30 <sup>a,b</sup>	43 <sup>a,b</sup>	50 <sup>a,b</sup>	0.19	0.05
Sieve 1.18 mm	69 <sup>a,b</sup>	55 <sup>a,b</sup>	46 <sup>a,b</sup>	0.14	0.05
Pan	0.8	1.6	3	0.08	0.33
Particle size orts (% DM)					
Sieve 19 mm	1.0	2.3	2.0	0.03	0.11
Sieve 8 mm	41.7 <sup>a,b</sup>	45.3 <sup>a,b</sup>	51.0 <sup>a,b</sup>	0.15	0.05
Sieve 1.18 mm	52.3 <sup>a,b</sup>	42.7 <sup>a,b</sup>	31.0 <sup>a,b</sup>	0.22	0.05
Pan	5.0	9.7	10	0.22	0.11
Sorting index (%) <sup>3</sup>					
Sieve 19 mm	66.5	68.1	69.2	0.22	0.23
Sieve 8 mm	102.6	101.4	101.8	1.30	0.18
Sieve 1.18 mm	110.9 <sup>a,b</sup>	107.9 <sup>a,b</sup>	115.2 <sup>a,b</sup>	0.23	0.05
Pan	87.7	88.1	88.2	0.24	0.33

Abbreviation: SEM, standard error of the mean.

<sup>1</sup>Treatment: LS (low straw: starter feed containing 10% DM basis straw,  $n = 11$ ), MS (medium straw: starter feed containing 15% DM basis straw,  $n = 11$ ), HS (high straw: starter feed containing 20% DM basis straw,  $n = 11$ ).

<sup>2</sup>Particle size: variables were measured using the Penn State Particle Separator (The Pennsylvania State University, University; Kononoff et al., 2003).

<sup>3</sup>Sorting index:  $100 \times$  (actual particle size fraction DMI divided by predicted particle size fraction DMI). Values equal to 100% indicate no sorting, <100% indicate selective orts (sorting against), and >100% indicate preferential consumption (sorting for). Particle size determined by the Penn State Particle Separator, which separates the particles in 4 fractions: long (>19 mm), medium (<19 but >8 mm), short (<8 but >1.18 mm), and fine (<1.18 mm). Data were averaged over 14-d period for each calves per treatment.

<sup>a,b</sup>Means within the row with different letters differ significantly ( $p \leq 0.05$ ).

feed with chopped straw did not affect sorting index of particles retained on the first ( $p = 0.23$ ), and second ( $p = 0.18$ ) sieves or the bottom pan ( $p = 0.33$ ); however, calves in the HS group had higher sorting index for short-length particles on the third sieve of the PSPS than calves fed LS (110.9 vs. 115.2%;  $p \leq 0.05$ ). Irrespective of increasing levels of straw in the treatment, calves sorted for medium and short-length particles on the second and third sieves of the PSPS. Also, increasing the level of straw provision in the starter feed in the treatment from 0% (CON group) to 20% (HS group) affected, respectively, higher NDF and lower starch intakes ( $p < 0.001$ ) throughout the trial (Table 3).

#### 3.2 | Feed intake and growth performance

Feed intake and growth performance are presented in Table 3. The starter intake, TDMI, ADG, HH and HG changes differed among treatments. In the current study, starter intake and TDMI were affected by treatments during post-weaning ( $p \leq 0.05$ ) and overall experimental periods ( $p \leq 0.05$ ), and the greatest effects were noted in the LS and MS groups. Also, pre-weaned ADG was greater ( $p \leq 0.05$ ) in LS and MS than HS treatment. The biometric measurements such as changes of HH and HG were higher ( $p \leq 0.05$ ), respectively, for LS and CON compared to HS during pre-weaning (3–56 days) and overall (3–84 days) periods. As the level of straw provision in the diet increased, a trend for a decrease in final HH was observed. Bodyweight, feed efficiency and HG were not affected by the dietary treatments. Also, starter, NDF and starch intakes, TDMI, and ADG increased ( $p < 0.001$ ) with calf age.

#### 3.3 | Rumen fermentation indices and blood metabolites

Ruminal fermentation measurements are presented in Table 4. Animals fed a diet containing chopped straw had a higher ruminal fluid pH ( $p \leq 0.05$ ) compared with CON calves fed pelleted starter feed without straw. Increasing the level of chopped straw in the starter feed increased pH from 5.4 to 6.5 at day 28. Also, in the HS group, we observed the highest ruminal fluid pH, which might be associated with the lower starter and starch intakes, and TDMI throughout the trial. The treatment effect was lower at day 56 (at weaning;  $p = 0.09$ ), and not observed at day 84 ( $p = 0.42$ ), when animals from all experimental groups exhibited similar pH values. On the other hand, calves receiving chopped straw in their diets showed a different VFA fermentation profile compared to the CON group. Calves fed the CON diet had higher ( $p \leq 0.01$ ) total VFA and propionate concentrations in the ruminal fluid than did straw-supplemented animals. Concentrations of butyrate also differed among treatments. At day 28 ( $p \leq 0.05$ ), butyrate levels were lower in forage supplemented than in non-supplemented calves, but from day 56 to day 84, we observed higher ( $p \leq 0.05$ ) concentrations in animals fed a starter feed containing chopped straw. Increasing the level of forage in the

TABLE 3 Effect of chopped straw provision level (0%, 10%, 15%, 20%) on starter intake and growth performance in dairy calves

Item	Treatment <sup>1</sup>				SEM	p-values		
	CON	LS	MS	HS		Treatment	Period	Treatment x Period
Starter intake (kg/day)								
Pre-weaning 3–56 day	0.36	0.33	0.35	0.21	0.04	0.46	<0.001	0.10
Post-weaning 57–84 day	1.65 <sup>a,b</sup>	1.79 <sup>a,b</sup>	1.76 <sup>a,b</sup>	1.32 <sup>c</sup>	0.02	0.05	<0.001	0.20
Overall 3–84 day	0.79 <sup>a,b</sup>	0.81 <sup>a,b</sup>	0.82 <sup>a,b</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0.04	0.05	<0.001	0.31
Total NDF intake (g/day)								
Pre-weaning 3–56 day	65.4 <sup>a,b</sup>	70.3 <sup>a,b</sup>	95.9 <sup>a,b</sup>	65.5 <sup>a,b</sup>	5.86	<0.001	<0.001	<0.001
Post-weaning 57–84 day	293.7 <sup>a,b</sup>	381.3 <sup>a,b</sup>	482.5 <sup>a,b</sup>	352.6 <sup>a,b</sup>	22.6	<0.001	<0.001	<0.001
Overall 3–84 day	140.6 <sup>a,b</sup>	172.5 <sup>a,b</sup>	224.7 <sup>a,b</sup>	166.9 <sup>a,b</sup>	11.6	<0.001	<0.001	<0.001
Total starch intake (g/day)								
Pre-weaning 3–56 day	157.3 <sup>a,b</sup>	126.1 <sup>a,b</sup>	120.4 <sup>a,b</sup>	64.9 <sup>c</sup>	7.62	<0.001	<0.001	<0.001
Post-weaning 57–84 day	721.1 <sup>a,b</sup>	683.8 <sup>a,b</sup>	605.4 <sup>a,b</sup>	407.9 <sup>c</sup>	32.1	<0.001	<0.001	<0.001
Overall 3–84 days	345.2 <sup>a,b</sup>	309.4 <sup>a,b</sup>	282.1 <sup>a,b</sup>	179.2 <sup>c</sup>	21.4	<0.001	<0.001	<0.001
TDMI <sup>2</sup> (kg/day)								
Pre-weaning 3–56 days	1.15	1.13	1.15	1.01	0.09	0.09	<0.001	0.72
Post-weaning 57–84 days	1.65 <sup>a,b</sup>	1.79 <sup>a,b</sup>	1.76 <sup>a,b</sup>	1.32 <sup>c</sup>	0.08	0.05	<0.001	0.77
Overall 3–84 days	1.30 <sup>a,b</sup>	1.34 <sup>a,b</sup>	1.34 <sup>a,b</sup>	1.10 <sup>c</sup>	0.08	0.05	<0.001	0.96
Bodyweight (kg)								
Initial (3 days)	38.5	38.3	39.1	39.0	0.62	0.25	–	–
Weaning (56 days)	64.1	65.1	66.1	62.2	1.08	0.15	–	–
Final (84 days)	88.6	89.4	89.6	84.8	1.64	0.25	–	–
ADG <sup>3</sup> (kg/day)								
Pre-weaning 3–56 days	0.48 <sup>3</sup>	0.51 <sup>a,b</sup>	0.51 <sup>a,b</sup>	0.44 <sup>a,b</sup>	0.03	0.05	<0.001	0.33
Post-weaning 57–84 days	0.90	0.91	0.87	0.84	0.09	0.22	<0.001	0.34
Overall 3–84 days	0.62	0.63	0.62	0.57	0.04	0.23	<0.001	0.94
FE <sup>4</sup>								
Pre-weaning 3–56 days	0.43	0.45	0.45	0.44	0.51	0.31	0.82	0.35
Post-weaning 57–84 days	0.55	0.50	0.49	0.64	0.24	0.81	0.53	0.93
Overall 3–84 days	0.48	0.47	0.46	0.52	0.03	0.44	0.62	0.13
Hip height (cm)								
Initial (3 days)	78.7	77.1	78.8	78.7	0.48	0.12	–	–
Weaning (56 days)	89.0	88.2	88.6	89.0	0.42	0.10	–	–
Final (84 days)	95.1	94.6	94.8	95.1	0.40	0.09	–	–
Hip height change (cm)								
Pre-weaning 3–56 days	10.3 <sup>4</sup>	11.1 <sup>a,b</sup>	9.8 <sup>a,b</sup>	9.0 <sup>a,b</sup>	0.11	0.05	0.28	0.28

(Continues)

TABLE 3 (Continued)

Item	Treatment <sup>1</sup>				SEM	p-values		
	CON	LS	MS	HS		Treatment	Period	Treatment x Period
Post-weaning 57–84 days	6.10	6.40	6.20	6.80	0.44	0.62	0.99	0.99
Overall 3–84 days	16.4 <sup>a,b</sup>	17.5 <sup>a,b</sup>	16.0 <sup>a,b</sup>	15.8 <sup>a,b</sup>	0.16	0.05	0.81	0.81
Heart girth (cm)								
Initial (3 days)	77.7	77.6	79.2	77.7	0.58	0.49	–	–
Weaning (56 days)	93.6	92.6	94.0	93.6	0.54	0.45	–	–
Final (84 days)	104.4	103.5	104.0	104.4	0.66	0.66	–	–
Heart girth change (cm)								
Pre-weaning 3–56 days	15.9 <sup>a,b</sup>	15.0 <sup>a,b</sup>	14.8 <sup>a,b</sup>	12.6 <sup>a,b</sup>	0.12	0.05	0.45	0.28
Post-weaning 57–84 days	10.8	10.9	10.0	10.2	0.54	0.34	0.62	0.99
Overall 3–84 days	26.7 <sup>a,b</sup>	25.9 <sup>a,b</sup>	24.8 <sup>a,b</sup>	22.8 <sup>a,b</sup>	0.14	0.05	0.39	0.81

Abbreviation: SEM, standard error of the mean.

<sup>1</sup>Treatment: CON (control, without straw,  $n = 11$ ), LS (low straw: starter feed containing 10% DM basis straw,  $n = 11$ ), MS (medium straw: starter feed containing 15% DM basis straw,  $n = 11$ ), HS (high straw: starter feed containing 20% DM basis straw,  $n = 11$ ).

<sup>2</sup>TDMI: total dry matter intake of milk replacer and starter feed.

<sup>3</sup>ADG - average daily gain (kg/day) in pre-weaning period = (((weaning BW - initial BW) divided by 53 days); in post-weaning period = (((final BW - weaning BW) divided by 27 days); in overall period = (((final BW - initial BW) divided by 81 days).

<sup>4</sup>FE - feed efficiency expressed as kg of ADG divided by kg of TDMI ratio.

<sup>a,b</sup>Means within the row with different letters different significantly ( $p \leq 0.05$ ).

starter feed increased ( $p \leq 0.05$ ) ruminal acetate concentration, especially at day 56 and day 84, as well as  $C_2$ :  $C_3$  and  $C_4$ :  $C_5$  ratios. The rumen *iso*-butyrate, valerate, *iso*-valerate and ammonia concentrations were not affected by the dietary treatments. Treatments affected total bacteria and total protozoa counts ( $p \leq 0.05$ ), reflecting rumen microorganisms population development. Also, counts of both microorganisms groups in the ruminal fluid increased with increases in the content of chopped straw in the starter feed from 0% (CON group) to 15% (MS group), but then these counts declined in the HS group. The data for blood indices are shown in Table 5. In the CON treatment, higher ( $p \leq 0.05$ ) levels of blood IGF-I at day 28, 56, 84 and lower ( $p \leq 0.05$ ) concentrations of BHBA especially at day 56, and day 84 compared to straw-supplemented calves were noted. NEFA and BUN concentrations were not affected by the dietary treatments.

## 4 | DISCUSSION

Results from previous research investigating the effects of forage provision to young calves have been inconsistent and have depended on factors including forage source (Castells et al., 2013), forage provision (Omidi-Mirzaei et al., 2018) and starter feed ingredients and chemical composition (Mirzaei et al., 2017). Therefore, the optimal level of forage as a feed component in a ration is important for improving feed intake and growth performance of dairy calves during the weaning period. The recommended levels

of NDF in the starter feed for dairy calves are between 15 to 25% (Davis & Drackley, 1998). In the current study, the starter intake, TDMI and ADG differed among treatments; the greatest effects were noted in LS (starter with 10% chopped straw) and MS (starter with 15% chopped straw), which suggest that added from 10% to 15% chopped triticale straw to the starter feed might be beneficial. Beiranvand et al., (2014) found that calves fed ground starter with 10% of chopped alfalfa hay exhibited greater DMI and ADG values, especially in the post-weaning period than those fed control or diet with 5% of alfalfa hay. Nemati et al., (2016) reported that TDMI, ADG, BW and HG increased after weaning with increasing levels of alfalfa hay (mixed with ground starter) in the diet: up to 25%. Iqbal et al., (2019) found that inclusion 15% of chopped oat hay in pelleted starter feed tended to reduce the weaning age by 5 days and feed cost per unit gain by 14%, as compared to conventional calf starter, without affecting growth performance, intake, FE and health parameters. Also, Hill et al., (2010) showed findings of regression, where the forage source did not affect productive performance, and DMI did not change with up to 3% of NDF from forage. On the other hand, in the current study calves on the HS diet showed a noticeable decrease in productive performance with respect to ADG in the pre-weaning period, and starter intake and TDMI during post-weaning and overall study periods. The decrease in growth rate observed in the HS group could be partially explained by the lower digestibility of nutrients in the high-fibre diet (Mojahedi et al., 2018). Digestibility was not measured in this study. However, FE (usually positively correlated with digestibility), expressed as the ADG to TDMI ratio, did

TABLE 4 Ruminal fermentation profile and microorganisms counts in dairy calves fed increasing levels of chopped straw (0%, 10%, 15%, 20%) in the diet

	Time <sup>2</sup> (day)	Treatment <sup>1</sup>				SEM	p -value
		CON	LS	MS	HS		
Rumen pH	28	5.40 <sup>a,b,c</sup>	5.80 <sup>a,b,c</sup>	5.90 <sup>a,b,c</sup>	6.50 <sup>a,b,c</sup>	0.08	0.05
	56	6.10	6.10	6.40	6.30	0.11	0.09
	84	6.30	6.40	6.40	6.50	0.20	0.42
Total VFA (mmol/L)	28	58.2 <sup>a,b,c</sup>	42.6 <sup>a,b,c</sup>	45.1 <sup>a,b,c</sup>	38.4 <sup>a,b,c</sup>	1.93	0.01
	56	61.8 <sup>a,b,c</sup>	55.8 <sup>a,b,c</sup>	55.9 <sup>a,b,c</sup>	51.1 <sup>a,b,c</sup>	2.98	0.01
	84	54.8 <sup>a,b,c</sup>	50.2 <sup>a,b,c</sup>	53.8 <sup>a,b,c</sup>	46.6 <sup>a,b,c</sup>	2.41	0.01
Acetate (mmol/L)	28	24.1	22.4	25.4	22.5	0.54	0.09
	56	28.9 <sup>a,b,c</sup>	31.1 <sup>a,b,c</sup>	30.1 <sup>a,b,c</sup>	29.7 <sup>a,b,c</sup>	0.12	0.05
	84	23.5 <sup>a,b,c</sup>	30.9 <sup>a,b,c</sup>	30.2 <sup>a,b,c</sup>	27.0 <sup>a,b,c</sup>	0.24	0.05
Propionate (mmol/L)	28	23.4 <sup>a,b,c</sup>	12.6 <sup>a,b,c</sup>	13.3 <sup>a,b,c</sup>	10.9 <sup>a,b,c</sup>	0.57	0.01
	56	24.8 <sup>a,b,c</sup>	15.9 <sup>a,b,c</sup>	16.1 <sup>a,b,c</sup>	14.5 <sup>a,b,c</sup>	0.76	0.01
	84	20.7 <sup>a,b,c</sup>	12.1 <sup>a,b,c</sup>	14.4 <sup>a,b,c</sup>	10.4 <sup>a,b,c</sup>	0.34	0.01
N-butyrate (mmol/L)	28	7.30 <sup>a,b,c</sup>	4.30 <sup>a,b,c</sup>	4.10 <sup>a,b,c</sup>	3.20 <sup>a,b,c</sup>	0.19	0.05
	56	5.20 <sup>a,b,c</sup>	6.30 <sup>a,b,c</sup>	7.10 <sup>a,b,c</sup>	6.10 <sup>a,b,c</sup>	0.16	0.05
	84	4.50 <sup>a,b,c</sup>	6.10 <sup>a,b,c</sup>	6.50 <sup>a,b,c</sup>	6.20 <sup>a,b,c</sup>	0.15	0.05
Iso-butyrate (mmol/L)	28	0.50	0.40	0.80	0.60	0.02	0.25
	56	0.40	0.40	0.50	0.60	0.01	0.34
	84	0.40	0.40	0.60	0.40	0.01	0.32
N-valerate (mmol/L)	28	2.30	1.50	1.30	0.90	0.11	0.19
	56	1.80	1.50	1.30	1.30	0.09	0.32
	84	1.20	1.00	1.20	1.20	0.09	0.24
Iso-valerate (mmol/L)	28	0.60	0.50	0.60	0.50	0.05	0.09
	56	0.70	0.60	0.80	1.00	0.01	0.11
	84	0.60	0.70	1.10	0.80	0.01	0.14
C <sub>2</sub> : C <sub>3</sub> ratio <sup>3</sup>	28	1.10 <sup>a,b,c</sup>	1.80 <sup>a,b,c</sup>	1.90 <sup>a,b,c</sup>	2.10 <sup>a,b,c</sup>	0.18	0.05
	56	1.20 <sup>a,b,c</sup>	2.00 <sup>a,b,c</sup>	1.90 <sup>a,b,c</sup>	2.10 <sup>a,b,c</sup>	0.12	0.05
	84	1.10 <sup>a,b,c</sup>	2.60 <sup>a,b,c</sup>	2.10 <sup>a,b,c</sup>	2.60 <sup>a,b,c</sup>	0.11	0.05
C <sub>4</sub> : C <sub>5</sub> ratio <sup>4</sup>	28	3.20 <sup>a,b,c</sup>	2.90 <sup>a,b,c</sup>	3.20 <sup>a,b,c</sup>	3.60 <sup>a,b,c</sup>	0.13	0.05
	56	2.90 <sup>a,b,c</sup>	4.20 <sup>a,b,c</sup>	5.50 <sup>a,b,c</sup>	4.70 <sup>a,b,c</sup>	0.12	0.05
	84	3.80 <sup>a,b,c</sup>	5.10 <sup>a,b,c</sup>	5.40 <sup>a,b,c</sup>	5.20 <sup>a,b,c</sup>	0.18	0.05
Bacteria (× 10 <sup>9</sup> /ml)	28	24.6 <sup>a,b,c</sup>	26.9 <sup>a,b,c</sup>	27.2 <sup>a,b,c</sup>	23.1 <sup>a,b,c</sup>	4.38	0.05
	56	35.4 <sup>a,b,c</sup>	42.3 <sup>a,b,c</sup>	44.6 <sup>a,b,c</sup>	34.1 <sup>a,b,c</sup>	3.22	0.05
	84	53.8 <sup>a,b,c</sup>	63.9 <sup>a,b,c</sup>	65.1 <sup>a,b,c</sup>	42.7 <sup>a,b,c</sup>	3.54	0.05
Protozoa (× 10 <sup>3</sup> /ml)	28	25.4 <sup>a,b,c</sup>	26.7 <sup>a,b,c</sup>	26.9 <sup>a,b,c</sup>	23.2 <sup>a,b,c</sup>	2.60	0.05
	56	28.9 <sup>a,b,c</sup>	30.2 <sup>a,b,c</sup>	32.3 <sup>a,b,c</sup>	25.6 <sup>a,b,c</sup>	2.43	0.05
	84	52.4 <sup>a,b,c</sup>	54.9 <sup>a,b,c</sup>	55.4 <sup>a,b,c</sup>	38.9 <sup>a,b,c</sup>	2.36	0.05
NH <sub>3</sub> -N (mmol/L)	28	9.10	10.3	9.10	10.2	0.38	0.60
	56	9.70	8.60	10.1	10.1	0.44	0.67
	84	8.70	7.90	9.80	9.10	0.39	0.53

Abbreviation: SEM, standard error of the mean.

<sup>1</sup>Treatment: CON (control, without straw,  $n = 11$ ), LS (low straw: starter feed containing 10% DM basis straw,  $n = 11$ ), MS (medium straw: starter feed containing 15% DM basis straw,  $n = 11$ ), HS (high straw: starter feed containing 20% DM basis straw,  $n = 11$ ).

<sup>2</sup>Time: age of calf.

<sup>3</sup>C<sub>2</sub>: C<sub>3</sub> ratio: the ratio of ruminal acetate to propionate acid.

<sup>4</sup>C<sub>4</sub>: C<sub>5</sub> ratio: the ratio of ruminal butyrate to valerate acid.

<sup>a,b,c</sup>Means within the row with different letters differ significantly ( $p \leq 0.05$ ).

**TABLE 5** Effect of chopped straw provision level (0%, 10%, 15%, 20%) on biochemical blood metabolites in dairy calves

Item	Time <sup>2</sup> (day)	Treatment <sup>1</sup>				SEM	p -value
		CON	LS	MS	HS		
IGF-I (ng/ml)	1	128.8	110.5	129.3	119.4	4.22	0.12
	28	75.3 <sup>a,b</sup>	65.7 <sup>a,b</sup>	73.3 <sup>a,b</sup>	72.5 <sup>a,b</sup>	2.65	0.05
	56	81.7 <sup>a,b</sup>	63.6 <sup>a,b</sup>	78.1 <sup>a,b</sup>	75.9 <sup>a,b</sup>	2.21	0.05
	84	91.2 <sup>a,b</sup>	71.0 <sup>a,b</sup>	83.5 <sup>a,b</sup>	76.2 <sup>a,b</sup>	2.87	0.05
BHBA (mmol/L)	1	0.36	0.38	0.37	0.37	0.02	0.14
	28	0.36	0.40	0.35	0.35	0.03	0.09
	56	0.44 <sup>a,b</sup>	0.46 <sup>a,b</sup>	0.48 <sup>a,b</sup>	0.46 <sup>a,b</sup>	0.01	0.05
	84	0.49 <sup>a,b</sup>	0.54 <sup>a,b</sup>	0.54 <sup>a,b</sup>	0.57 <sup>a,b</sup>	0.01	0.05
NEFA (mmol/L)	1	0.66	0.66	0.55	0.54	0.01	0.28
	28	0.46	0.46	0.42	0.45	0.02	0.45
	56	0.39	0.41	0.43	0.42	0.02	0.34
	84	0.40	0.41	0.44	0.41	0.01	0.53
BUN (mg/dl)	1	12.4	12.7	12.4	13.1	0.38	0.43
	28	10.4	10.7	11.1	11.1	0.22	0.58
	56	11.6	12.4	13.9	11.8	0.24	0.44
	84	13.9	13.1	15.7	15.2	0.32	0.39

Abbreviation: SEM, standard error of the mean.

<sup>1</sup>Treatment: CON (control, without straw,  $n = 11$ ), LS (low straw: starter feed containing 10% DM basis straw,  $n = 11$ ), MS (medium straw: starter feed containing 15% DM basis straw,  $n = 11$ ), HS (high straw: starter feed containing 20% DM basis straw,  $n = 11$ ).

<sup>2</sup>Time: age of calf.

<sup>a,b</sup>Means within the row with different letters differ significantly ( $p \leq 0.05$ ).

not differ among treatments in this study. The poorer performance of HS calves was, therefore, more likely related to the low rate of fibre digestion in the rumen, which increased gut fill, leading to reduced feed intake (Drackley, 2008), and also confirmed that starter feed containing 30.5% of NDF was too high a level. Porter et al., (2007) reported, in pre-weaned calves, greater numerical differences in BW gain, starter intake and rumen pH in high-(27% NDF) than in low-(20% NDF) NDF starters. In previously performed experiments, NDF content in diets was usually lower, not exceeding 14.8% (Beiranvand et al., 2014), 24.5% (Nemati et al., 2016), and 28.6% (Iqbal et al., 2019). In the current study, NDF contents in CON, LS, MS and HS diets were, respectively, 17.8%, 21.3%, 27.4% and 30.5%, and the beneficial effect of up 27% of total NDF content was observed. It might suggest that this level favours maximization feed intake and growth performance of dairy calves. Additionally, in the current study, with increasing levels of straw in the treatment, calves sorted for medium and short-length particles on the second and third sieves of the PSPS: calves in the HS treatment. Costa et al., (2016) suggested that ruminants are able to make dietary choices from a young age, and these choices are driven by nutritional demands, rumen function or their motivation to chew and ruminate. Before weaning, sorting behaviour in the milk-feeding stage was influenced by ration forage particle size: calves sorted for hay when it was coarsely chopped and sorted for hay when the hay was finely ground (Montoro et al., 2013). Also, Miller-Cushon and DeVries (2011) reported that calves sorted forage particles from starter feed,

especially during the pre-weaning period, but established a preference for sorting against forage particles or grain particles within a month after this transition in the diet. However, calves in the present study were fed pelleted starter feed with chopped straw from birth (day 3), which may indicate that the observed sorting activity was not due to feeding neophobia or a lack of the requisite motor skills to obtain fine particle, but was probably due to the high levels of straw and total NDF content in starter feed, especially in the HS group. Therefore, from our results, it might be concluded that improvement in performance parameters depends on the final total NDF content in the diet.

Animals fed a starter feed containing chopped straw had a higher ruminal fluid pH compared with CON calves fed pelleted starter feed without straw. Increasing the level of chopped straw in the starter feed increased pH from 5.4 to 6.5 at day 28. The increase in ruminal pH that we found in the pre-weaned period in response to forage provision to calves is widely described in the literature (Hosseinia et al., 2019; Nemati et al., 2016), although in most studies it has been observed both before and after weaning. This increasing effect could be explained by the modulation of rumen environmental by the increased rumination time, increased saliva secretion, and, consequently, more alkaline (sodium bicarbonate) for buffering the rumen. Also, we did not analyse animal behaviour, but Terre et al., (2013) and Mirzaei et al., (2017) showed longer rumination times for calves consuming diets supplemented with chopped hay compared to animals fed starter without any forage source, and Omid-Mirzaei

et al., (2018) reported that calves fed wheat straw spent greater time ruminating than those fed alfalfa hays. In addition, higher pH was probably partially related to the lower total VFA concentrations found in straw-supplemented compared to non-supplemented calves which, in turn, might be due to either the lower fermentation rates of the fibrous material in the rumen, or the greater VFA absorption across the ruminal wall or both (Penner et al., 2009).

Calves receiving starter feed containing chopped straw showed a different total and VFA fermentation profile compared to the CON group. Our results are in agreement with those of Castells et al., (2013) and Terre et al., (2013), who found a lower total ruminal VFA in calves fed starter and, separately, chopped alfalfa or oat hay compared with those fed only pelleted concentrate feed. Also, some reports have indicated that plasma IGF-1 concentration in calves is positively associated with nutritional status, energy intake and ruminal VFA concentration (Frieten et al., 2018). In agreement with these studies, we found the highest IGF-1 levels in blood of calves on the CON diet, consuming rapidly fermentable concentrate feeds without forage addition. The IGF-1 concentrations changed over time in directions that were generally in agreement with those previously reported for pre- and post-weaned calves (Gasiorek et al., 2020). In the current study, the concentration of acetate, butyrate and propionate differed among treatments. Increasing the level of forage in the starter feed increased ruminal acetate concentration, especially at day 56 and day 84, as well as C<sub>2</sub>: C<sub>3</sub> ratios, which is in agreement with other studies (Mirzaei et al., 2017; Nemati et al., 2016), probably as a result of the greater degradation of fibre by cellulolytic bacteria. We also found a linear relationship between decreasing grain contents in the diet, and in consequence starch intake, and decreasing propionate concentrations. Throughout the trial, we observed the higher propionate level in CON than in straw-supplemented animals. On the other hand, at day 28 butyrate levels were lower in forage supplemented than in non-supplemented calves, but from day 56, we observed higher concentrations in animals fed a starter feed containing chopped straw. The differences observed in propionate and butyrate, both before and after weaning, could be due to higher starch intake in CON compared to the LS, MS and HS groups. It is well known that concentrate feeds ferment in the rumen to propionate and butyrate, which (especially butyrate) are the key factors enhancing papillae growth and development of the rumen epithelium (Khan et al., 2016). However, butyrate may also promote keratinization of rumen papillae, thereby reducing the ability of cells to absorb VFA and other compounds into the blood (McGavin & Morrill, 1976). Some studies have reported that feeding calves diets containing components with abrasive properties (such as forages) result in a thinner keratin layer in the rumen (Beiranvand et al., 2014). Additionally, Castells et al., (2013) showed a greater expression of monocarboxylate transporter 1 that plays a direct role in VFA absorption in the rumen epithelium of calves with access to forage. Both the removal of the keratinized layer and the increased expression of VFA transporters in response to feeding forages are possible mechanisms for improving the ability of the rumen wall to absorb VFA and, consequently, for maintaining a higher ruminal pH. In this

study, we did not analyse the rumen wall function or VFA absorption. However, a mark of weaning is the shift away from the majority of energy being from intestinal absorption of nutrients to energy being derived from ruminal microbial fermentation and the production of VFA being absorbed and metabolized by the rumen epithelium. The major metabolic pathway of VFA metabolism in the rumen epithelium is ketogenesis (Khan et al., 2011). In the current study, the average blood concentration of BHBA during our experiment was higher, especially at day 56, and day 84 in straw-supplemented calves. BHBA is produced by the metabolism of butyrate during its passage across the ruminal wall and, in consequence, its higher level can be used as an indicator of the greater metabolic activity of ruminal epithelial cells (Khan et al., 2011). Therefore, a greater concentration of BHBA in forage-fed calves suggested that ruminal development was normal and that rumen walls were equally efficient in converting n-butyrate to BHBA (Khan et al., 2016).

It is well-known that ruminal bacterial communities respond to changes in diet composition. Some studies have shown alterations in both bacterial diversity and the relative quantities of various bacteria species in the rumen between animals fed forage and no-forage diets (Kim et al., 2016). It is in line with our results, we found that diets with 10% and 15% chopped straw were associated with improved rumen microorganisms population, resulting in a higher, compared to CON diet, total bacteria and protozoa counts. On the other hand, the decline in total numbers of ruminal microorganisms in calves fed starter containing 20% straw were probably related to the lowest starter intake and TDMI observed in this treatment.

## 5 | CONCLUSION

Including 10% to 15% chopped triticale straw in a diet with pelleted starter feed improved starter intake, growth performance and rumen environmental, resulting in an increased pH and total counts of bacteria and protozoa in ruminal fluid, and higher BHBA in blood. Also, calves not manifested a preference for selecting starter feeds for the particle size including 10% to 15% of chopped triticale straw. However, 20% chopped straw in the starter feed was associated with a lower starter intake, and TDMI, and lower ADG, and change of HH. Also, calves manifested a sorting preference for fine particle size and against for long particle size only within HS treatment with 20% of chopped straw. These results indicate that providing straw to calves can be beneficial for their performance, but the use of 20% chopped straw to the pelleted starter negatively affected growth performance.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

## ANIMAL WELFARE STATEMENT

The authors confirm that the ethical policies of the journal, as noted on the journal's author guidelines page, have been adhered to and the appropriate ethical review committee approval has been

received. All research was conducted in accordance with the "Act on the Protection of Animals Used for Scientific Purpose" of the Republic of Poland, which complies with European Union legislation for the protection of animals used for scientific purposes. All procedures were approved by the Local Ethical Committee (decision no. 21/2015).

#### DATA AVAILABILITY STATEMENT

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

#### ORCID

Barbara Stefańska  <https://orcid.org/0000-0001-5421-3165>

#### REFERENCES

- Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., & Boyer, J. E. (1987). Ruminant microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*, *64*, 1215–1226.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2010). *Official Methods of Analysis*, 18th edn, Vol. 2. Arlington, VA: AOAC.
- Beiranvand, H., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Nabipour, A., Dehghan-Banadaky, M., Homayouni, A., & Kargar, S. (2014). Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *Journal of Dairy Science*, *97*, 2270–2280.
- Campling, R. C., & Morgan, C. A. (1981). Eating behavior of housed dairy cows—A review. *Journal of Dairy Science*, *43*, 57–63.
- Castells, L., Bach, A., Aris, A., & Terre, M. (2013). Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, *96*, 5226–5236.
- Costa, J. H. C., Adderley, N. A., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2016). Short communication: Effect of diet changes on sorting behavior of weaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *99*, 5635–5639.
- Davis, C. L., & Drackley, J. K. (1998). *The development nutrition and management of the young calf* (p. 286). Iowa State University Press.
- DeVries, T. J., & von Keyserlingk, M. A. (2009). Competition for feed affects the feeding behavior of growing dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, *92*, 3922–3929.
- DeVries, T. J., von Keyserlingk, M. A., & Beauchemin, K. A. (2005). Frequency of feed delivery affects the behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *88*, 3553–3562.
- Directorate General for Agriculture and Rural Development (2019). Short-term outlook for EU agricultural markets. number 22. Retrieved from [http://ec.europa.eu/agriculture/markets-and-prices/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/agriculture/markets-and-prices/index_en.htm).
- Drackley, J. K. (2008). Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *24*, 55–86.
- Duncombe, W. G. (1964). The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clinica Chimica Acta*, *9*, 122–125.
- Ericsson, M., Hanstorp, D., Hagberg, P., Enger, J., & Nystrom, T. (2000). Sorting out bacterial viability with optical tweezers. *Journal of Bacteriology*, *182*, 5551–5555.
- Frieten, D., Gerbert, C., Koch, C., Dusel, G., Eder, K., Hoeflich, A., Mielenz, B., & Hammon, H. M. (2018). Influence of ad libitum milk replacer feeding and butyrate supplementation on the systemic and hepatic insulin-like growth factor I and its binding proteins in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *101*, 1661–1672.
- Gasiorek, M., Stefanska, B., Pruszyńska-Oszmalek, E., Taciak, M., Komisarek, J., & Nowak, W. (2020). Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal*, *14*(10), 2054–2062. <https://doi.org/10.1017/S1751731120000774>.
- Glamoclija, N., Starcevic, M., Ciric, J., Sefer, D., Glisic, M., Baltic, M. Z., Markovic, R., Spasic, M., & Glamoclija, D. (2018). The importance of triticale in animal nutrition. *Veterinary Journal of Republic of Srpska*, *15*, 73–94.
- Greter, A. M., & DeVries, T. J. (2011). Effect of feeding amount on the feeding and sorting behaviour of lactating dairy cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, *91*, 47–54.
- Groen, M. J., Steele, M. A., & DeVries, T. J. (2015). Short communication: Effect of straw inclusion rate in a dry total mixed ration on the behavior of weaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *98*, 2693–2700.
- Hall, M. B. (2001). Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis (A laboratory manual). Pages V-1–V-9 in Univ. Florida Bull. 339. Dep. Anim. Sci., Inst. Food Agric. Sci., Gainesville, FL.
- Hill, T. M., Bateman, H. G. II, Aldrich, P. A. S. J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2010). Roughage amount, source, and processing for diets fed to weaned dairy calves. *The Professional Animal Scientist*, *26*, 181–187.
- Hill, T. M., Bateman, H. G. II, Aldrich, P. A. S. J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2012). High-starch, coarse-grain, low-fiber diets maximize growth of weaned dairy calves less than 4 months of age. *Applied Animal Science*, *28*, 325–331.
- Hosseinia, S. H., Mirzaei-Alamoutia, H., Vazirigoharb, M., Mahjoubia, E., & Rezamand, P. (2019). Effects of whole milk feeding rate and straw level of starter feed on performance, rumen fermentation, blood metabolites, structural growth, and feeding behavior of Holstein calves. *Animal Feed Science and Technology*, *255*, 114238.
- Iqbal, Z., Rashid, M. A., Pasha, T. N., & Ahmed, J. (2019). Effects of physical forms of total mixed rations on intake, weaning age, growth performance, and blood metabolites of crossbred dairy calves. *Animals*, *9*, 495.
- Khan, M. A., Bach, A., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2016). Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, *99*, 885–902.
- Khan, M. A., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2011). Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *Journal of Dairy Science*, *94*, 3547–3553.
- Kim, Y. H., Nagata, R., Ohtani, N., Ichijo, T., Ikuta, K., & Sato, S. (2016). Effects of dietary forage and calf starter diet on ruminal pH and bacteria in Holstein calves during weaning transition. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1575.
- Kononoff, P. J., Heinrichs, A. J., & Buckmaster, D. R. (2003). Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *Journal of Dairy Science*, *86*, 1858–1863.
- Laarman, A. H., & Oba, M. (2011). Short communication: Effect of calf starter on rumen pH of Holstein dairy calves at weaning. *Journal of Dairy Science*, *94*, 5661–5664.
- Leonardi, C., & Armentano, L. E. (2003). Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *86*, 557–564.
- Leonardi, C., Giannico, F., & Armentano, L. E. (2005). Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *88*, 1043–1049.
- McGavin, M. D., & Morrill, J. L. (1976). Scanning electron microscopy of ruminal papillae in fed various amounts and forms of roughage. *American Journal of Veterinary Research*, *37*, 497–508.
- Michałowski, T., Harmeyer, H., & Breves, G. (1986). The passage of protozoa from the reticulo-rumen through the omasum of sheep. *British Journal of Nutrition*, *56*, 625–634.
- Miller-Cushon, E. K., Bergeron, R., Leslie, K. E., Mason, G. J., & DeVries, T. J. (2013). Effect of early exposure to different feed presentations on feed sorting of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *96*, 4624–4633.

- Miller-Cushon, E. K., & DeVries, T. J. (2009). Effect of dietary dry matter concentration on the sorting behavior of lactating dairy cows fed a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, *92*, 3292–3298.
- Miller-Cushon, E. K., & DeVries, T. J. (2011). Effect of early feed type exposure on diet-selection behavior of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *94*, 342–350.
- Mirzaei, M., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Kazemi-Bonchenari, M., & Ghaffari, M. H. (2017). Growth performance, feeding behavior, and selected blood metabolites of Holstein dairy calves fed restricted amounts of milk: No interactions between sources of finely ground grain and forage provision. *Journal of Dairy Science*, *100*, 1086–1094.
- Mojahedi, S., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Ghasemi, E., Mirzaei, M., & Hashemzadeh-Cigari, F. (2018). Performance, nutritional behavior, and metabolic responses of calves supplemented with forage depend on starch fermentability. *Journal of Dairy Science*, *101*, 7061–7072.
- Montoro, C., Miller-Cushon, E. K., DeVries, T. J., & Bach, A. (2013). Effect of physical form of forage on performance, feeding behavior, and digestibility of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *96*, 1117–1124.
- Nemati, M., Amanlou, H., Khorvash, M., Mirzaei, M., Moshiri, B., & Ghaffari, M. H. (2016). Effect of different alfalfa hay levels on growth performance, rumen fermentation, and structural growth of Holstein dairy calves. *Journal of Animal Science*, *94*, 1141–1148.
- NRC (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*, 7th rev edn. Natl Acad Press.
- Omidi-Mirzaei, H., Azarfar, A., Mirzaei, M., Kiani, A., & Ghaffari, M. H. (2018). Effects of forage source and forage particle size as a free-choice provision on growth performance, rumen fermentation, and behavior of dairy calves fed texturized starters. *Journal of Dairy Science*, *101*, 4143–4157.
- Pavlatá, L., Stastník, O., Krivová, S., Dockalová, H., Sedláková, L., Mrkvicová, E., & Doležal, P. (2017). The effect of different physical forms of starter feed on rumen fermentation indicators and weight gain in calves after weaning. *Acta Veterinaria Brno*, *86*, 285–291.
- Penner, G. B., Taniguchi, M., Guan, L. L., Beauchemin, K. A., & Oba, M. (2009). Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue. *Journal of Dairy Science*, *92*, 2767–2781.
- Porter, J. C., Warner, R. G., & Kertz, A. F. (2007). Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *The Professional Animal Scientist*, *23*, 395–400.
- Quigley, J. D. 3rd, Kost, C. J., & Wolfe, T. M. (2002). Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Journal of Dairy Science*, *85*, 1243–1248.
- SAS Institute. (2014). *SAS/STAT user's guide. Version 9.4*. SAS. Institute Inc.
- Stefańska, B., Komisarek, J., Stanisławski, D., Gaśiorek, M., Kasprowicz-Potocka, M., Frankiewicz, A., & Nowak, W. (2018). The effect of *Yarrowia lipolytica* culture on growth performance, ruminal fermentation and blood parameters of dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, *243*, 72–79.
- Terre, M., Castells, L., Khan, M. A., & Bach, A. (2015). Interaction between the physical form of the starter feed and straw provision on growth performance of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *98*, 1101–1109.
- Terre, M., Pedrals, E., Dalmau, A., & Bach, A. (2013). What do preweaned and weaned calves need in the diet: a high fiber content or a forage source? *Journal of Dairy Science*, *96*, 5217–5225.
- United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. (2019). EU-28: Grain and Feed Annual. Retrieved from [www.fas.usda.gov/data/eu-28-grain-and-feed-annual-3](http://www.fas.usda.gov/data/eu-28-grain-and-feed-annual-3).
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, *74*, 3583–3597.

**How to cite this article:** Gaśiorek M, Stefańska B, Pruszyńska-Oszmiatek E, Komisarek J, Nowak W. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre- and post-weaning periods. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2021;00:1–12. <https://doi.org/10.1111/jpn.13562>

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre-and post-weaning periods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) - koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Mgr inż. Michał Gąsiorek .....  .....

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre-and post-weaning periods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

### **Wkład współautorów w powstanie pracy:**

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) - koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Barbara Stefańska ..... *Barbara Stefańska* .....

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre-and post-weaning periods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

### **Wkład współautorów w powstanie pracy:**

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) - koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

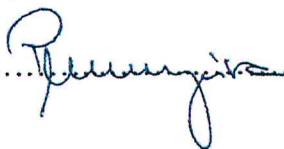
Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek .....



## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre-and post-weaning periods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

### **Wkład współautorów w powstanie pracy:**

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) - koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Jolanta Komisarek .....



## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2022. Effects of the straw inclusion in the diet of dairy calves on growth performance, rumen fermentation, and blood metabolites during pre-and post-weaning periods. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 106(1):33-44. DOI: 10.1111/jpn.13562.

### **Wkład współautorów w powstanie pracy:**

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) - koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

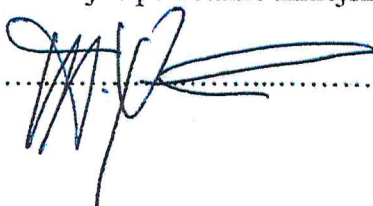
Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu


Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak .....



# Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods

M. Gasiorek<sup>1</sup>, B. Stefanska<sup>1†</sup> , E. Pruszynska-Oszmalek<sup>2</sup>, M. Taciak<sup>3</sup>, J. Komisarek<sup>4</sup> and W. Nowak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Nutrition, Poznań University of Life Sciences, 33 Wołyńska Street, 60-637 Poznań, Poland; <sup>2</sup>Department of Animal Physiology and Biochemistry, Poznań University of Life Sciences, 35 Wołyńska Street, 60-637 Poznań, Poland; <sup>3</sup>Department of Animal Nutrition, The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, 3 Instytucka Street, 05-110 Jabłonna, Poland; <sup>4</sup>Department of Animal Breeding and Product Quality Assessment, Poznań University of Life Sciences, Złotniki, 1 Słoneczna Street, 62-002 Suchy Las, Poland

(Received 5 October 2019; Accepted 17 March 2020; First published online 20 April 2020)

*The comparison of the effects of all forage offering methods would be particularly useful information in modeling growth performance and rumen fermentation of dairy calves. Therefore, this study attempted to evaluate the effects of methods of oat hay provision on growth performance, rumen fermentation and biochemical blood indices of dairy calves during preweaning and postweaning periods. At birth, 40 female Polish Holstein-Friesian calves (3 days of age; 39.6 ± 0.39 kg BW) were randomly assigned to four treatment groups differing in the access to chopped oat hay: CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different buckets) and FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different buckets). The calves were weaned on day 56, and then the study continued until day 84. Intakes of starter feed and oat hay were recorded daily, whereas BW and hip height (HH) on day 3 and then every 14 days. Samples of blood were collected on the initiation of experiment and then every 14 days, and rumen contents on day 28, 56 and 84. No treatment effects were found for starter, starch, CP, total DM intake, average daily gain, feeding efficiency, change in HH, ruminal fluid pH, concentrations of ruminal propionate and NH<sub>3</sub>-N, concentrations of urea nitrogen and non-esterified fatty acids in the blood. There were differences between treatments in terms of ruminal total volatile fatty acids and molar concentrations of acetate, butyrate and acetate to propionate ratio; highest in OH and OH-FC groups, especially during the postweaning period. On the other hand, lower concentrations of iso-valerate were found in OH and OH-FC groups on day 56 and 84. The concentrations of IGF-I throughout the experiment and β-hydroxybutyrate during the postweaning period in the blood were influenced by treatment, with the greatest values observed in OH and OH-FC calves. Results of this study indicate that starter feed containing chopped oat hay improves rumen fermentation parameters, which might allow successful transition from preruminant to mature ruminant state. Also, providing chopped oat hay with pelleted starter feed seems to be a better method than free-choice supplementation.*

**Keywords:** calf rearing, pelleted starter, forage, solid feed, dietary transition

## Implications

The results of this study provide a comparison of all possibilities of providing forage with starter feed, which is important for improving dairy calves' weaning nutrition model. The results showed no relationship between the methods of chopped oat hay provision on the growth performance of dairy calves. However, the mode of oat hay provision potentially improved the ruminal fermentation profile, which might

also increase the starter and total dry matter intake at the end of the postweaning period.

## Introduction

An important nutritional aim for easing the transition from preruminant to mature ruminant state is the physical and metabolic development of the reticulorumen (Khan *et al.*, 2016). A smooth transition from a liquid feed (whole milk

<sup>†</sup> E-mail: [barbara.stefanska@up.poznan.pl](mailto:barbara.stefanska@up.poznan.pl)

or milk replacer) to solid feed is a key factor in minimizing weight loss and distress at weaning, which also could directly influence the productivity of future lactation (Movahedi *et al.*, 2017). The preweaning growth of calves is a complex process that involves the interactions between nutritional components and metabolism, which are greatly affected by dietary strategies and feeding management (Mirzaei *et al.*, 2017). Nutritional factors that influence the growth rate of calves include the variation in the particle size and physical form of starter (Terre *et al.*, 2013) and the chemical composition of starter feeds (Khan *et al.*, 2008). In preweaned dairy calves, the intake of solid feed, particularly high in carbohydrates, stimulates rumen development through microbial proliferation and volatile fatty acid (VFA) synthesis, which subsequently stimulates the development of rumen papillae (Tamate *et al.*, 1962). Currently, feeding programs for dairy calves recommend higher amounts of whole milk or milk replacer (especially during the first 4 weeks of life) and starter feed (Frieten *et al.*, 2018). However, interaction between these feeds (especially when calves are fed finely pelleted starter) may have negative effects during the preweaning period, such as decrease in ruminal pH (Laarman and Oba, 2011), decrease in rumen motility, keratinization of ruminal papillae and impaired absorption of VFA in the rumen (Nocek and Kesler, 1980). Therefore, new studies of rumen development have been undertaken in recent years, with specific attention to the modulation of ruminal function and fermentation processes in response to high levels of fermentable carbohydrates in the diets of calves. Considerable evidence exists in the literature that the provision of forage can improve growth performance (Castells *et al.*, 2013), feed efficiency (FE) (Terre *et al.*, 2013), rumen fermentation, reticulorumen muscular development, flow of saliva into the rumen (van Ackeren *et al.*, 2009) and feeding behavior (EbnAli *et al.*, 2016). Also, differences in the forage type led to varying results. The BW was significantly greater for calves fed a pelleted starter supplemented *ad libitum* with oat hay but was decreased with *ad libitum* alfalfa hay (Castells *et al.*, 2013). Calf starter feed can be fed alone, blended with forages or fed with free-choice forage. Although some studies determined the impact of forage offering as a total mixed ration or free-choice feeding to young calves, only limited scientific data are available on the complete comparison of the effects of all forage offering methods on calf growth performance and fermentation. This information would be particularly useful in modeling growth, rumen fermentation and understanding changes in intake with age during the critical transition a calf makes to consuming a forage diet. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of oat hay providing methods on growth performance, rumen fermentation and biochemical blood indices of dairy calves during preweaning and postweaning periods. We hypothesized that the method of chopped oat hay provision can influence the growth performance and subsequently rumen environment and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods.

## Material and methods

### *Animals, management and treatments*

A total of 40 Polish Holstein-Friesian female calves (20 born from primiparous cows and 20 born from multiparous cows), all obtained from a single farm, were separated from their dams within 2 h of birth and moved to a naturally ventilated barn with individual pens (2.9 m × 1.1 m × 1.8 m; length × width × height) for the duration of the trial. Calves were kept in pens with wood sawdust bedding. The pens were refreshed every day, and manure was removed daily to keep the pens visibly clean and dry. In the first 24 h, the calves received 4 l colostrum in two feedings (2 × 2 l). On day 2 and 3, they were fed 2 × 2 l of transition milk (4 l/day) at 0900 and 1700 h. Between 24 and 48 h after birth, blood samples were drawn to determine serum total protein concentration. In all animals, the serum total protein was > 6.0 g/dl ( $P > 0.05$ ), indicating an adequate passive transfer of immunity. The calves were provided 6 l/day of milk replacer solution three times daily at 0600, 0800 and 1400 h from day 4 to 49, followed by feeding with 2 l milk replacer once daily at 0600 h until day 56. The milk replacer powder (21% CP, DM basis, and 18% ether extract, DM basis; Polmass Milk, Bydgoszcz, Poland) was mixed at a ratio of 150 g as-fed to 1 l of water. Freshwater was continually available for the calves in buckets.

Shortly after birth, calves (3 days of age;  $39.6 \pm 0.39$  kg BW) were randomly assigned to one of four treatment groups ( $n = 10$  calves each). Treatments differed by access to chopped oat hay, and the groups were as follows: **CON** (control) = fed a pelleted starter feed (isonitrogenous, 20% CP, DM basis; Holagra, Leszno, Poland) without oat hay, **OH** = fed pelleted starter feed containing 10% DM basis oat hay, **OH-FC** = fed pelleted starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay offered in different buckets as a free-choice provision and **FC** = fed pelleted starter feed and oat hay offered in different buckets as a free-choice provision. Forage-supplemented treatments provided the same oat hay, which was chopped to obtain the mean particle size of  $2 \text{ cm} \pm 0.5$  in length, using a harvesting machine with the screen-size regulator (Golchin Trasher Hay., Isfahan, Poland). Starter feeds and chopped oat hay were provided *ad libitum* from day 3 to 84 and delivered every morning at 1000 h. The offered feed formulated according to the National Research Council NRC (2001) and adjusted daily to ensure at least 10% refusals, which were collected and weighed on an individual basis.

Throughout the experiment, 12 representative samples of the oat hay and the starter feeds were collected weekly, immediately after morning delivery, to determine the nutritional composition and particle size distribution. Procedures of the Association of Official Analytical Chemists AOAC (2010) were used to analyze the samples for DM (method no. 934.01), ether extract (method no. 973.18), CP (method no. 976.05), ADF (method no. 973.18) and ash (method 942.05). The starch content of the starter feeds was determined according to the procedure of Hall (2001). The NDF

was determined by the method of Van Soest *et al.* (1991), and the concentrations of macroelements were measured by inductively coupled plasma optical emission spectrometry in an Optima 2000 DV Spectrophotometer. The chemical composition, nutritional value and particle size distribution of experimental starter feed and oat hay are shown in Supplementary Table S1.

#### Feed intake and growth performance

Calves were weighed on day 3 and then every 14 days thereafter before the morning feeding using an electronic balance during the whole experimental period (week 1 to 12). Hip height (HH) measurement was recorded at the start of the study and every 14 days thereafter as the distance from the base of the rear feet to hook bones as described by Stefańska *et al.* (2018). Individual intakes of starter feed (without and with chopped oat hay) and chopped oat hay were measured daily. The total intakes of NDF, starch, CP and total DM intake (TDMI from milk replacer, starter feed and oat hay) were calculated for the preweaning (from day 3 to 56), postweaning (from day 57 to 84) and overall (from day 3 to 84) experimental periods. The preweaning, postweaning and overall average daily gain (ADG = the difference between final and initial BW taken every 14 days apart divided by 14) and FE (feed efficiency = kg of ADG divided by kg of TDMI) were also calculated. Calf health was monitored daily by a veterinarian unaware of the diets during the preweaning and postweaning periods. Calves with diarrhea or pneumonia were treated with the standard procedure prescribed by the veterinarian. Calves in general were healthy, and no animal died during the study period.

#### Sampling and laboratory analyses

Rumen contents (approximately 150 ml) were sampled through a stomach tube with manual vacuum pump on day 28, 56 and 84 at 4 h  $\pm$  30 min after morning feeding of starter feed and filtered through four layers of cheesecloth. To prevent saliva and cross-contaminations, the first 100 ml of each sample was discarded and stomach tubes were washed with warm water between collections. Ruminal pH was measured immediately after sampling using a CP-104 pH-meter (Elmetron, Zabrze, Poland). Samples were then fractionated into two parts, one was used for individual VFA analyses by gas chromatography (Barszcz *et al.*, 2011, Supplementary Material S1), while the other was used for NH<sub>3</sub>-N measurement as described in detail by Stefańska *et al.* (2018).

Blood was collected 4 h  $\pm$  30 min after morning feedings of starter feed on the initiation of the study and then every 14 days thereafter during the experiment. The samples were taken by jugular vein into tubes containing polystyrene separating granules covered with a clot activator. Serum was obtained by centrifugation of blood at 3000 $\times$ g for 15 min at 4°C, and then, it was separated and stored at -20°C until analysis. The serum was used to determine the concentrations of total protein (no. T7528), blood urea nitrogen (no. B7552) and  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA, no. H7587–58).

Serum IGF-I was measured by radioimmunoassay method, and levels of non-esterified fatty acids were determined according to the colorimetric method as described by Stefańska *et al.* (2018; Supplementary Material S2).

#### Statistical analysis

Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS software (version 9.4, SAS Institute Inc., 2014). Before any analysis was carried out, all data were tested for normality using the UNIVARIATE procedure of SAS. The starter intake, growth performance and blood metabolites data were analyzed using the MIXED procedure (version 9.4, SAS Institute Inc., 2014) separately for three discrete periods as the preweaning (from day 3 to 56), postweaning (from day 57 to 84) and the overall experimental periods (from day 3 to 84), using the following model:  $Y_{ijklm} = \mu + \text{Calf}_i + \text{Treatment}_j + \text{Period}_k + (\text{Treatment} \times \text{Period})_{kj} + E_{ijk} + e_{ijklm}$ , where  $Y_{ijklm}$  – the dependent variable,  $\mu$  – average experimental value,  $\text{Calf}_i$  – the random effect of the calf (as an experimental unit) and as a random error with mean 0 and calf variance that is the variance between calves within the treatment and equal to the covariance between repeated measurements within calves,  $\text{Treatment}_j$  – the fixed effect of treatment ( $j = \text{CON, OH, OH-FC or FC}$ ),  $\text{Period}_k$  – the fixed effect of 14-day measurement period for all variables ( $k = \text{number of 14-day measurement periods}$ ),  $(\text{Treatment} \times \text{Time})_{jk}$  – represent the effect of the interaction between treatment and period,  $E_{ijk}$  – the sampling error and  $e_{ijklm}$  – the error term. In the MIXED MODEL mentioned earlier, the effects of treatment, period and treatment by period interaction were considered as fixed and calf as random effect. Various covariance structures (including CS, Simple, UN, TOEP, AR (1), ARH (1) and ANTE (1)) were tested to find the best-fitted structure for the model. The measurement period (14-day period) was modeled as a repeated measurement by using the compound symmetry as the covariance structure on the basis of best fit determined by the lowest Bayesian information criterion. In cases of significant treatment, individual comparisons were made using a Duncan's adjustment. Statistical significance was declared when  $P \leq 0.05$ , and trends were indicated when  $0.05 < P \leq 0.1$ .

Data on BW, HH and rumen fermentation characteristic were subjected to ANOVA according to the following model:  $Y_{ij} = \mu + \text{Treatment}_i + e_j$ , where,  $Y_{ij}$  – the dependent variable;  $\mu$  – the average experimental value;  $\text{Treatment}_i$  – the effect of treatment ( $i = \text{CON, OH, OH-FC or FC}$ ) and  $e_j$  – the error term.

## Results

The results of growth performance and feed consumption indices are presented in Table 1. No relationships were detected between the method of oat hay provision and starter, starch and CP intakes, TDMI, ADG, FE and change in HH ( $P > 0.05$ ). As expected, calves consumed little solid feed during the first 8 weeks of life. On the other hand, calves consumed more starter intake and TDMI in OH and OH-FC

**Table 1** Effect of method of oat hay provision on growth performance in dairy calves

Item	Treatment <sup>1</sup>				SEM	P-values		
	CON	OH	OH-FC	FC		Treatment	Period	Treatment × Period
<b>Starter intake (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.31	0.32	0.32	0.30	0.11	0.46	<0.001	0.10
Postweaning 57 to 84 days	2.01	2.07	2.07	2.05	0.14	0.78	<0.001	0.20
Overall 3 to 84 days	0.90	0.93	0.93	0.90	0.12	0.63	<0.001	0.31
<b>Milk replacer intake (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.82	0.82	0.82	0.82	0.06	0.62	0.59	0.84
Postweaning 57 to 84 days	–	–	–	–	–	–	–	–
Overall 3 to 84 days	–	–	–	–	–	–	–	–
<b>Oat hay intake<sup>2</sup> (g/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	–	–	11.1	13.4	0.09	0.57	0.40	0.92
Postweaning 57 to 84 days	–	–	47.5	41.6	0.03	0.71	0.64	0.93
Overall 3 to 84 days	–	–	23.7	23.2	0.04	0.57	0.19	0.72
<b>Total NDF intake (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.06 <sup>B</sup>	0.08 <sup>A</sup>	0.09 <sup>A</sup>	0.06 <sup>B</sup>	0.01	<0.001	<0.001	<0.001
Postweaning 57 to 84 days	0.36 <sup>B</sup>	0.50 <sup>A</sup>	0.54 <sup>A</sup>	0.40 <sup>B</sup>	0.02	<0.001	<0.001	<0.001
Overall 3 to 84 days	0.16 <sup>B</sup>	0.22 <sup>A</sup>	0.24 <sup>A</sup>	0.18 <sup>B</sup>	0.04	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Total starch intake (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.11	0.10	0.10	0.11	0.02	0.85	0.57	0.49
Postweaning 57 to 84 days	0.74	0.64	0.64	0.76	0.06	0.85	0.90	0.81
Overall 3 to 84 days	0.32	0.29	0.29	0.33	0.06	0.63	0.45	0.31
<b>Total CP intake (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.23	0.24	0.24	0.23	0.01	0.32	0.12	0.32
Postweaning 57 to 84 days	0.40	0.42	0.43	0.41	0.04	0.52	0.17	0.42
Overall 3 to 84 days	0.29	0.30	0.30	0.30	0.02	0.35	0.32	0.35
<b>TDMI<sup>3</sup> (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	1.13	1.14	1.15	1.13	0.06	0.62	<0.001	0.24
Postweaning 57 to 84 days	2.01	2.07	2.12	2.09	0.08	0.34	<0.001	0.22
Overall 3 to 84 days	1.43	1.46	1.49	1.47	0.04	0.44	<0.001	0.36
<b>BW (kg)</b>								
Initial (3 days)	38.7	41.0	39.9	38.9	0.39	0.25	–	–
Weaning (56 days)	67.1 <sup>b</sup>	71.4 <sup>a</sup>	69.0 <sup>ab</sup>	66.7 <sup>b</sup>	1.14	0.05	–	–
Final (84 days)	88.1 <sup>b</sup>	96.6 <sup>a</sup>	93.2 <sup>ab</sup>	89.9 <sup>ab</sup>	1.21	0.05	–	–
<b>ADG<sup>4</sup> (kg/day)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.54	0.57	0.55	0.52	0.15	0.93	<0.001	0.97
Postweaning 57 to 84 days	0.78	0.93	0.90	0.86	0.22	0.59	<0.001	0.50
Overall 3 to 84 days	0.61	0.69	0.66	0.63	0.19	0.53	<0.001	0.95
<b>FE<sup>5</sup></b>								
Prewaning 3 to 56 days	0.48	0.50	0.48	0.46	0.01	0.10	0.32	0.46
Postweaning 57 to 84 days	0.39	0.45	0.42	0.41	0.03	0.13	0.83	0.19
Overall 3 to 84 days	0.43	0.47	0.44	0.43	0.03	0.42	0.32	0.82
<b>Hip height (cm)</b>								
Initial (3 days)	79.3	80.8	81.3	81.9	0.33	0.22	–	–
Weaning (56 days)	89.1 <sup>B</sup>	92.3 <sup>A</sup>	89.0 <sup>AB</sup>	89.5 <sup>AB</sup>	0.17	0.01	–	–
Final (84 days)	94.8 <sup>B</sup>	97.4 <sup>A</sup>	96.6 <sup>AB</sup>	95.3 <sup>AB</sup>	0.29	0.01	–	–
<b>Hip height change (cm)</b>								
Prewaning 3 to 56 days	9.80	10.5	7.70	7.60	0.21	0.19	<0.001	0.28
Postweaning 57 to 84 days	5.70	5.1	7.60	5.80	0.25	0.62	<0.001	0.99
Overall 3 to 84 days	15.5	15.6	15.3	13.4	0.27	0.25	<0.001	0.81

<sup>1</sup>Treatment = CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket) and FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket).

<sup>2</sup>Oat hay intake = intake of oat hay fed as free-choice provision in different bucket in OH-FC and FC groups (g/day).

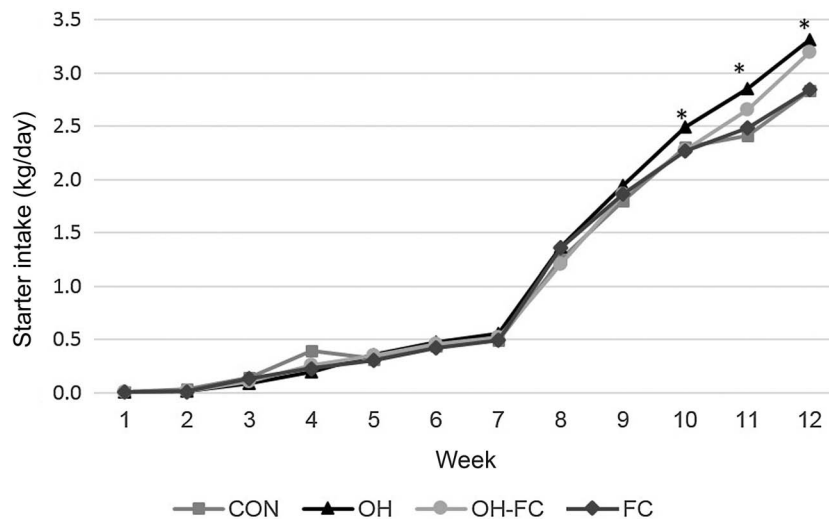
<sup>3</sup>TDMI = total DM intake from milk replacer, starter feeds and oat hay supplement as free-choice (kg/day).

<sup>4</sup>ADG = average daily gain (kg/day) in preweaning period = ((weaning BW – initial BW)/53 day), in postweaning period = ((final BW – weaning BW)/28 day) and in overall period = ((final BW – initial BW)/81 day).

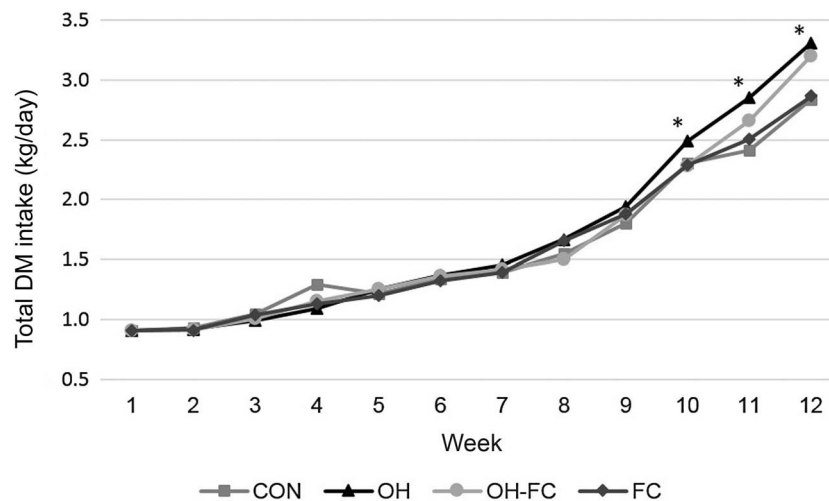
<sup>5</sup>FE = feed efficiency expressed as ADG/TDMI ratio.

<sup>a,b</sup> Means within a column with different superscripts differ ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>A,B</sup> Means within a column with different superscripts differ ( $P \leq 0.01$ ).



**Figure 1** The effect of method of chopped oat hay provision on starter intake (mean  $\pm$  SEM; kg/day) in dairy calves (CON = control, starter without oat hay; OH = starter feed containing 10% DM basis oat hay; OH-FC = starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket; FC = starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket). SEM = 0.08. Effects in the model: Treatment  $P = 0.030$ ; Period  $P = < 0.001$ ; Treatment  $\times$  Period  $P = 0.26$ . \* $P \leq 0.05$  indicates significant difference between treatments.



**Figure 2** The effect of method of chopped oat hay provision on total DM intake (mean  $\pm$  SEM; kg/day) in dairy calves (CON = control, starter without oat hay; OH = starter feed containing 10% DM basis oat hay; OH-FC = starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket; FC = starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket). SEM = 0.06. Effects in the model: Treatment  $P = 0.024$ ; Period  $P = < 0.001$ ; Treatment  $\times$  Period  $P = 0.34$ . \* $P \leq 0.05$  indicates significant difference between treatments.

calves than in CON and FC calves since week 10 of the experiment (Figures 1 and 2). Throughout the trial, total NDF intake was higher ( $P < 0.001$ ) in OH and OH-FC groups than in CON and FC groups. Also, the interaction was found for total NDF intake between methods of oat hay provision and period. Starter intake, total NDF intake, TDMI, ADG and HH change increased with the age of calves (effect of the period;  $P < 0.001$ ). Greater BW and HH were noted at weaning ( $P = 0.05$  and  $P < 0.001$ , respectively) and at the final of experiment ( $P = 0.05$  and  $P = 0.01$ , respectively) in OH group than in CON group; however, there were no treatment effects on ADG and HH change.

Ruminal fluid pH, total VFA concentrations, molar concentrations and percentages of individual VFA and  $\text{NH}_3\text{-N}$  are

presented in Table 2 and Supplementary Table S2. There was no effect of treatment on ruminal fluid pH ( $P > 0.05$ ). However, the calves fed pelleted starter feed containing 10% DM basis oat hay (OH), and pelleted starter feed containing 10% DM basis and oat hay offered in different buckets as free-choice provision (OH-FC) had higher ruminal pH values, respectively, by 0.43 and 0.42 at day 28 than calves in CON group. The total VFA and molar concentrations of acetate, butyrate and acetate to propionate ratio differed between treatments ( $P \leq 0.05$ ), and the highest levels of these indices were found in OH and OH-FC groups, especially at day 56 and 84. On the other hand, lower concentrations of iso-valerate ( $P \leq 0.05$ ) in OH and OH-FC groups, especially after weaning, were noted. No effects of methods of oat

**Table 2** Effect of method of oat hay provision on rumen fermentation measurements in dairy calves

Item	Time <sup>1</sup>	Treatment <sup>2</sup>				SEM	P-values Treatment
		CON	OH	OH-FC	FC		
Ruminal pH	28	5.29	5.72	5.71	5.59	0.12	0.49
	56	6.04	6.20	6.44	6.21	0.18	0.53
	84	6.20	6.41	6.22	6.16	0.22	0.48
VFA <sup>3</sup> molar concentrations (mmol/l)							
Total VFA	28	101.2	100.5	102.5	96.9	0.20	0.09
	56	116.8 <sup>ab</sup>	123.0 <sup>a</sup>	119.3 <sup>a</sup>	115.4 <sup>b</sup>	0.11	0.05
	84	110.1 <sup>b</sup>	124.1 <sup>a</sup>	128.1 <sup>a</sup>	116.2 <sup>ab</sup>	0.09	0.05
Acetate	28	48.3 <sup>b</sup>	51.5 <sup>a</sup>	55.4 <sup>a</sup>	49.4 <sup>ab</sup>	0.11	0.05
	56	57.2 <sup>ab</sup>	60.7 <sup>a</sup>	65.0 <sup>a</sup>	53.5 <sup>b</sup>	0.09	0.05
	84	53.9 <sup>b</sup>	62.5 <sup>a</sup>	67.6 <sup>a</sup>	58.5 <sup>ab</sup>	0.05	0.05
Propionate	28	34.3	35.0	30.8	31.0	1.24	0.30
	56	40.9	40.9	34.0	41.6	1.66	0.43
	84	38.1	39.3	38.7	38.9	1.54	0.52
N-butyrate	28	14.7	10.6	12.5	12.1	0.06	0.19
	56	13.5 <sup>b</sup>	15.6 <sup>a</sup>	15.4 <sup>a</sup>	14.9 <sup>ab</sup>	0.04	0.05
	84	12.8 <sup>b</sup>	16.6 <sup>a</sup>	16.0 <sup>a</sup>	13.8 <sup>ab</sup>	0.05	0.05
N-valerate	28	2.63	2.31	2.99	3.46	0.11	0.09
	56	3.92	4.57	3.87	3.97	0.03	0.09
	84	3.55	4.41	4.52	3.36	0.06	0.06
Iso-valerate	28	1.26	1.13	0.84	0.96	0.04	0.07
	56	1.31 <sup>ab</sup>	1.20 <sup>b</sup>	1.04 <sup>b</sup>	1.40 <sup>a</sup>	0.02	0.05
	84	1.70 <sup>a</sup>	1.30 <sup>b</sup>	1.30 <sup>b</sup>	1.67 <sup>a</sup>	0.04	0.05
C <sub>2</sub> : C <sub>3</sub> ratio <sup>4</sup>	28	1.41	1.47	1.80	1.59	0.08	0.08
	56	1.40 <sup>ab</sup>	1.48 <sup>a</sup>	1.91 <sup>a</sup>	1.29 <sup>b</sup>	0.02	0.05
	84	1.41 <sup>b</sup>	1.59 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>	1.50 <sup>ab</sup>	0.04	0.05
C <sub>4</sub> : C <sub>5</sub> ratio <sup>5</sup>	28	4.05	4.59	3.85	4.08	0.22	0.39
	56	3.70	3.41	3.98	4.01	0.25	0.43
	84	3.88	3.76	3.54	4.11	0.29	0.40
NH <sub>3</sub> -N (mmol/l)	28	21.2	19.2	13.5	17.5	1.38	0.16
	56	14.3	16.4	10.2	15.1	1.60	0.12
	84	27.0	25.7	23.1	32.6	1.93	0.17

<sup>1</sup>Treatment = CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket) and FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket).

<sup>2</sup>Time = age of calf (day).

<sup>3</sup>VFA = volatile fatty acids.

<sup>4</sup>C<sub>2</sub> : C<sub>3</sub> ratio = the ratio of ruminal acetate to propionate.

<sup>5</sup>C<sub>4</sub> : C<sub>5</sub> ratio = the ratio of ruminal butyrate to valerate.

<sup>a,b</sup>Means within a column with different superscripts differ ( $P \leq 0.05$ ).

hay provision were found for the percentages of individual VFA and ruminal NH<sub>3</sub>-N ( $P > 0.05$ ).

Concentrations of blood metabolites are presented in Table 3. The age of calves affected all biochemical blood indices, but differences between treatments were detected only for concentrations of IGF-I (through the entire experimental period;  $P \leq 0.05$ ) and BHBA (during the postweaning period;  $\leq 0.05$ ), and the higher value of these parameters was found in OH and OH-FC groups. No interaction was found for blood metabolites between methods of oat hay provision and period.

## Discussion

Considerable evidence of the potential effect of dietary forage supplementation on the growth performance and rumen

fermentation of dairy calves is available in the literature. However, the aims of the most published research were to compare the forage source or its level (Castells *et al.*, 2013), physical form of starter feed (Hill *et al.*, 2009) and grain source (Khan *et al.*, 2008) using mainly one of the possible forage provision methods (total mixed ration or free-choice). Currently, only limited scientific results are available on the complete comparison of the effects of all forage offering methods on calf growth performance, fermentation and blood metabolites. In this study, no relationship was found between treatments for starter, starch, CP intakes, TDMI, ADG, FE and change in HH. Also, the highest total NDF intake was observed in OH and OH-FC groups. On the other hand, calves consumed more starter intake and TDMI in OH and OH-FC calves than in CON and FC calves since week 10 of the experiment. Terre *et al.* (2013) studied the addition of

**Table 3** Effect of method of oat hay provision on biochemical blood indices in dairy calves

Item	Treatment <sup>1</sup>				SEM	P-values		
	CON	OH	OH-FC	FC		Treatment	Time	Treatment × Time
Blood urea nitrogen (mg/dl)								
Prewaning 3 to 56 days	5.72	5.72	5.59	6.11	0.32	0.63	0.01	0.28
Postweaning 57 to 84 days	5.63	5.33	5.59	3.90	0.43	0.63	0.01	0.32
Overall 3 to 84 days	9.37	9.50	9.11	10.3	0.38	0.49	0.01	0.42
IGF-I (ng/ml)								
Prewaning 3 to 56 days	43.7 <sup>ab</sup>	51.2 <sup>a</sup>	49.8 <sup>a</sup>	36.1 <sup>b</sup>	0.02	0.05	0.01	0.45
Postweaning 57 to 84 days	30.3 <sup>b</sup>	39.4 <sup>a</sup>	37.8 <sup>a</sup>	34.8 <sup>ab</sup>	0.01	0.05	0.01	0.56
Overall 3 to 84 days	39.3 <sup>b</sup>	41.3 <sup>a</sup>	42.6 <sup>a</sup>	39.3 <sup>b</sup>	0.03	0.05	0.01	0.59
β-hydroxybutyrate (mmol/l)								
Prewaning 3 to 56 days	0.27	0.30	0.29	0.28	0.14	0.25	0.01	0.22
Postweaning 57 to 84 days	0.35 <sup>b</sup>	0.49 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>	0.40 <sup>ab</sup>	0.06	0.05	0.01	0.23
Overall 3 to 84 days	0.61	0.67	0.67	0.62	0.22	0.60	0.01	0.25
Non-esterified fatty acids (mmol/l)								
Prewaning 3 to 56 days	0.38	0.36	0.38	0.41	0.18	0.59	0.01	0.82
Postweaning 57 to 84 days	0.39	0.43	0.42	0.41	0.23	0.60	0.01	0.62
Overall 3 to 84 days	0.37	0.34	0.37	0.36	0.14	0.59	0.01	0.51

<sup>1</sup>Treatment = CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket) and FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket).

<sup>a,b</sup>Means within a column with different superscripts differ ( $P \leq 0.05$ ).

chopped oat hay fed *ad libitum* and separately from two pelleted starter feeds containing either high or low NDF; no effect on intake was detected up to weaning at 5 weeks, but TDMI increased numerically from 5 to 9 weeks. Also, in the current study, no statistical differences were found between treatments for ADG throughout the trial. These results are in line with Coverdale *et al.* (2004), where effects of feeding starter with addition of oat hay were compared, and numerically higher values for BW, ADG and FE prior to weaning in forage-supplemented than non-supplemented animals were found, but the differences were not significant. This could have been associated with an insufficient time given for the rumen to adapt to hay supplementation (Coverdale *et al.* 2004). On the other hand, our results are inconsistent with the research of EbnAli *et al.* (2016), where the best growth performance was obtained by feeding calves with alfalfa as a forage source and offered as a free-choice. The inconsistent findings compared to previous studies may have resulted from management strategies (i.e. a model of milk replacer feeding), the variation in forage species (alfalfa hay *v.* oat hay) and its quality. The differences in chemical properties, lesser pectin and greater hemicellulose and NDF contents in oat hay than in alfalfa hay might be responsible for greater flow rate from the rumen to the intestine. Castells *et al.* (2013) compared the empty BW of calves fed with supplemented oat hay and alfalfa hay and found that the increased weight gain of the calves fed *ad libitum* with oat hay might be due to an increased degree of intestinal filling caused by an increase in ketone BW rather than the increased accumulation of chyme in the gastrointestinal tract; in addition, the calves fed *ad libitum* with alfalfa hay had a greater weight of total gastrointestinal tract, and this

increased BW may have been due to an increased degree of intestinal filling.

Available studies demonstrate the negative effects of low ruminal pH, resulting from intensive feeding high amounts of liquid and starter feeds, on the production performance of young dairy calves (Khan *et al.*, 2016; Meale *et al.*, 2017). Therefore, new feeding strategies recommend forage supplementation to improve the value of ruminal fluid pH and stimulate rumen development. In the current study, no relationships were detected between the method of oat hay provision and ruminal fluid pH; however, the calves fed pelleted starter feed containing 10% DM basis oat hay (OH), and pelleted starter feed containing 10% DM basis and oat hay offered in different buckets as free-choice provision (OH-FC) had higher ruminal pH values, respectively, by 0.43 and 0.42 at day 28 than calves in CON group. Possible reasons for the increased ruminal pH following forage provision in preruminant calves are multifactorial. Including forage in calf starter that does not ferment rapidly may be beneficial in raising and stabilizing ruminal pH (Khan *et al.*, 2016). The greater ruminal pH in forage-supplemented calves could also be explained by the forage effect on eating and ruminating activity and, therefore, elevating rumen pH through the increasing flow of salivary buffer (van Ackeren *et al.*, 2009).

The start of rumen fermentation can be noted at a very young age, and VFAs can be found in the rumen of calves as early as the 2nd week of life (Meale *et al.*, 2017). This is confirmed by enzymatic activities of ruminal microbiota (such as fibrolysis, amylolysis, proteolysis and ureolysis), which have been observed in the rumen from 4 to 10 days of age (Meale *et al.*, 2017). In the current study, molar

concentrations of total VFA, acetate, butyrate and acetate to propionate ratio differed between treatments. The greatest values were found in oat hay-provided (OH and OH-FC in particular) groups, especially after weaning. This finding might be partially associated with greater solid food consumption and the subsequent earlier establishment of microorganisms in the rumen. Previously, it has been argued that the ruminal concentrations of VFAs do not accurately reflect the rate of fermentation due to their rapid clearance and the greater variability in the volume of rumen digesta liquid (Dijkstra *et al.*, 1993). However, the ratio between individual VFAs may be indicative of the type of fermentation. Similar to the result of this study, a higher concentration of acetate and acetate to propionate ratio were observed earlier in forage-supplemented calves (Terre *et al.*, 2013), indicating that forage intake promotes the growth of fibrolytic bacteria in the rumen. Also, similar to the results presented by Mojahedi *et al.* (2018), the lowest concentration of iso-valerate was found in calves supplemented with forage in this study. This fatty acid arises from the catabolism of amino acids (AAs) such as valine, isoleucine, leucine and proline and is in turn used for the biosynthesis of these AAs. Forage addition to starter diets may stimulate the growth of fibrinolytic bacteria and, consequently, incorporate more iso-valerate as a precursor of branched-chain AA to microbial protein biomass, resulting in lower iso-valerate in the ruminal fluid.


Butyrate is well known to be the basis factor influencing the development of the ruminal mucosa and, consequently, enlarging ruminal epithelium absorptive surface area. On the other hand, its high concentration may promote hyperkeratosis that reduces the absorptive capacity of the rumen epithelium (Nocek and Kesler, 1980). In the current research, the butyrate concentration was also affected by treatment; in CON group, the highest was on day 28 and the lowest on day 56, which was vice versa in other groups, especially in the groups where the starter feed contained the oat hay (OH and OH-FC). It may be therefore presumed that OH and OH-FC treatments modulated fermentation in a way that was beneficial for the development of ruminal epithelium. In the current study, the development of the rumen papillae was not measured. However, although the level of blood BHBA, which can be used as an indirect indicator of rumen development and maturity (Quigley *et al.*, 1992), differed between treatments, higher concentration was found in OH and OH-FC groups, especially during the postweaning period. The same groups were characterized by the greatest IGF-I levels. Insulin-like growth factor-I is a hormone produced in many tissues throughout the body, mostly in the liver (Jones and Clemmons, 1995). It is a growth promoter that regulates the proliferation of many cell types, including the epithelial cells of the intestine and rumen (Frieten *et al.*, 2018). It is thought to be associated with the energy status of the body. In previous research, higher concentrations of this hormone in the serum corresponded with greater nutrient intake and enhanced growth (Frieten *et al.*, 2018). However, in this study, IGF-I levels did not reflect the production performance of calves.

## Conclusion

Results of this study indicate that the chopped oat hay in the starter allows rumen fermentation parameters to reflect that of mature ruminants, which suggests a better suited rumen environment to undergo weaning and allow successful transition from non-ruminant to ruminant metabolism. Providing chopped oat hay with pelleted starter feed seems to be a better method of forage provision compared to free-choice supplementation, but the biological significance of these results needs to be investigated further in larger field trials.

## Acknowledgements

This study was supported by grant no. 80/2016/B financed by AGROPOL, Września, Poland.

 B. Stefanska 0000-0001-5421-3165

## Declaration of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Ethics statement

All research was performed in accordance with the 'Act on the protection of animals used for scientific purpose' of the Republic of Poland, which complies with the European Union Legislation for the protection of animals used for scientific purposes. All procedures were approved by the Local Ethical Committee for Animal Research (Poznań, Poland; permission number: 32/2016).

## Software and data repository resources

None of the data were deposited in an official repository.

## Supplementary material

To view supplementary material for this article, please visit <https://doi.org/10.1017/S1751731120000774>

## References

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 2010. Official methods of analysis, volume 2, 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Barszcz M, Taciak M, and Skomial J 2011. A dose-response effects of tannic acid and protein on growth performance, caecal fermentation, colon morphology, and  $\beta$ -glucuronides activity of rats. *Journal of Animal Feed Science* 20, 613–625.
- Castells L, Bach A, Aris A, and Terre M 2013. Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science* 96, 5226–5236.
- Coverdale JA, Tyler HD, Quigley JD, and Brumm JA. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal of Dairy Science* 87, 2554–2562.
- Dijkstra J, Boer H, Van Bruchem J, Bruining M, and Tamminga S 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *British Journal of Nutrition* 69, 385–396.
- EbnAli A, Khorvash M, Ghorbani GR, Mahdavi AH, Malekhhahi M, Mirzaei M, Pezeshki A, and Ghaffari MH 2016. Effects of forage offering method on performance, rumen fermentation, nutrient digestibility and nutritional behaviour in Holstein dairy calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100, 820–827.

- Frieten D, Gerbert C, Koch C, Dusel G, Eder K, Hoeflich A, Mielenz B, and Hammon HM 2018. Influence of ad libitum milk replacer feeding and butyrate supplementation on the systemic and hepatic insulin-like growth factor I and its binding proteins in Holstein calves. *Journal of Dairy Science* 101, 1661–1672.
- Hall MB 2001. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis (A laboratory manual). University of Florida Extension Bulletin, Gainesville, FL, USA
- Hill TM, Bateman HG, Aldrich JM, and Schlotterbeck RL 2009. Roughage for diets fed to weaned dairy calves. *The Professional Animal Scientist* 25, 283–288.
- Jones JL, and Clemmons DR 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews* 16, 3–34.
- Khan MA, Bach A, Weary DM and von Keyserlingk MAG 2016. Invited review: transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science* 99, 885–902.
- Khan MA, Lee HJ, Lee WS, Kim HS, Kim SB, Park SB, Baek KS, Ha JK, and Choi YJ 2008. Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. *Journal of Dairy Science* 91, 1140–1149.
- Laarman AH, and Oba M 2011. Short communication: effect of calf starter on rumen pH of Holstein dairy calves at weaning. *Journal of Dairy Science* 94, 5661–5664.
- Meale SJ, Chaucheyras-Durand F, Berends H, Guan LL, and Steele MA 2017. From pre- to postweaning: Transformation of the young calf's gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science* 100, 5984–5995.
- Mirzaei M, Khorvash M, Ghorbani GR, Kazemi-Bonchenari M, and Ghaffari MH 2017. Growth performance, feeding behavior, and selected blood metabolites of Holstein dairy calves fed restricted amounts of milk: no interactions between sources of finely ground grain and forage provision. *Journal of Dairy Science* 100, 1086–1094.
- Mojahedi S, Khorvash M, Ghorbani GR, Ghasemi E, Mirzaei M, and Hashemzadeh-Cigari F 2018. Performance, nutritional behavior, and metabolic responses of calves supplemented with forage depend on starch fermentability. *Journal of Dairy Science* 101, 7061–7072.
- Movahedi B, Foroozandeh AD, and Shakeri P 2017. Effects of different forage sources as a free-choice provision on the performance, nutrient digestibility, selected blood metabolites and structural growth of Holstein dairy calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101, 293–301.
- Nocek JE, and Kesler EM 1980. Growth and rumen characteristics of Holstein steers fed pelleted or conventional diets. *Journal of Dairy Science* 63, 249–254.
- National Research Council (NRC) 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised edition. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Quigley JD, Steen TM, and Boehms SI 1992. Postprandial changes of selected blood and ruminal metabolites in ruminating calves fed diets with or without hay. *Journal of Dairy Science* 75, 228–235.
- Statistical Analysis Software Institute (SAS) 2014. *Statistical Analysis Software User's Guide*. 9.4. version Statistical Analysis Software Institute, Cary, NC, USA.
- Stefańska B, Komisarek J, Stanisławski D, Gasiorek M, Kasprowicz-Potocka M, Frankiewicz A, and Nowak W 2018. The effect of *Yarrowia lipolytica* culture on growth performance, ruminal fermentation and blood parameters of dairy calves. *Animal Feed Science and Technology* 243, 72–79.
- Tamate H, McGilliard AD, Jacobson NL, and Getty R 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *Journal of Dairy Science* 45, 408–420.
- Terre M, Pedrals E, Dalmau A, and Bach A 2013. What do preweaned and weaned calves need in the diet: a high fiber content or a forage source? *Journal of Dairy Science* 96, 5217–5225.
- Van Ackeren C, Steingäß H, Hartung K, Funk R, and Drochner W 2009. Effect of roughage level in a total mixed ration on feed intake, ruminal fermentation patterns and chewing activity of early-weaned calves with ad libitum access to grass hay. *Animal Feed Science and Technology* 153, 48–59.
- Van Soest PJ, Robertson JB, and Lewis BA 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583–3597.

**Animal: An International Journal of Animal Bioscience**

**Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods**

M. Gąsiorek<sup>1</sup>, B. Stefańska<sup>1</sup>, E. Pruszyńska-Oszmałek<sup>2</sup>, M. Taciak<sup>3</sup>, J. Komisarek<sup>4</sup> and W. Nowak<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Department of Animal Nutrition, Poznań University of Life Sciences, 33 Wołyńska Street, 60-637 Poznań, Poland*

*<sup>2</sup>Department of Animal Physiology and Biochemistry, Poznań University of Life Science, 35 Wołyńska Street, 60-637 Poznań, Poland*

*<sup>3</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Department of Animal Nutrition, 3 Instytucka Street, 05-110 Jabłonna, Poland*

*<sup>4</sup>Department of Animal Breeding and Product Quality Assessment, Poznań University of Life Sciences, Złotniki, 1 Słoneczna Street, 62-002 Suchy Las, Poland*

Corresponding author: Barbara Stefańska. Email: [barbara.stefanska@up.poznan.pl](mailto:barbara.stefanska@up.poznan.pl)

## Supplementary material

**Supplementary Table S1** *Nutritional value of oat hay and experimental starter feed ingredients for dairy calves (% DM unless stated)*

Item	Treatments <sup>1</sup>		Oat hay <sup>2</sup>
	CON and FC	OH and OH-FC <sup>3</sup>	
<b>Ingredient</b>			
Soybean meal	23.2	27.1	
Wheat bran	20.0	20.0	
Barley meal	24.0	16.4	
Wheat meal	21.3	15.0	
Corn meal	10.0	10.0	
Oat hay	-	10.0	
Vitamin and mineral premix <sup>4</sup>	1.50	1.50	
<b>Nutritional value</b>			
Dry matter (% as-fed)	83.6	85.6	91.0
Crude Protein (CP)	20.0	20.3	9.10
Neutral detergent fiber (NDF)	17.8	24.2	77.6
Acid detergent fiber (ADF)	9.10	10.5	32.8
starch	36.7	30.9	0.71
Ether extract	2.50	2.50	2.40
Ash	6.50	6.60	5.00
Ca	0.91	0.92	0.35
P	0.76	0.77	0.27
Na	0.15	0.15	0.05
Mg	0.30	0.30	0.10

<sup>1</sup> Treatment - CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket), FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket).

<sup>2</sup> Chopped oat hay contained 30.9, 35.4, 25.2 and 8.5% DM of long (>19 mm), medium (19 to 8 mm), short (8 to 1.18 mm), and fine (< 1.18 mm) particles, respectively. Particle length variables were measured using the Penn State Particle Separator (The Pennsylvania State University Park; Kononoff et al., 2003)

<sup>3</sup> Starter feed with 10% of oat hay/kg DM used in OH and OH-FC groups contained 2.0, 35.0, 55.0 and 8.0% DM of long (>19 mm), medium (19 to 8 mm), short (8 to 1.18 mm), and fine (< 1.18 mm) particles, respectively.

<sup>4</sup> Vitamin and mineral premix per kg of supplement – 250 000 IU of vitamin A, 50 000 IU of vitamin D, 1 500 IU of vitamin E, 2.25 g of Mn, 120 g of Ca, 7.7 g of Zn, 20 g of P, 20.5 g of Mg, 186 g of Na, 1.25 g of Fe, 3 g of S, 14 mg of Co, 1.25 g of Cu, 56 mg of I, and 10 mg of Se.

**Supplementary material S1** Methodology and results of quality control tests for volatile fatty acids (VFA) determination.

Ruminal fluid (5 mL) after mixing with 0.5 mL of 85% of formic acid was centrifuged for 10 min at 10 000 x g at room temperature. Next, the 500 mL of supernatants were transferred into chromatographic vials and mixed with 75 mL of isocaproic acid (1% v/v in ddH<sub>2</sub>O, internal standard; IS). Samples were analysed in duplicate, using a HP 5890 Series II gas chromatograph (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) with a flame-ionization detector (FID) and Supelco Nukol (Supelco, Bellefonte, PA, USA) fused silica capillary column (30 m x 0.25 mm i.d.; 0.25 mm). Helium was used as the carrier gas with a flow rate of 103 mL/min. The oven was initially kept at 100 °C for 2 min, then heated at 10 °C/min to 140 °C and held for 20 min. The injector temperature was maintained at 220 °C, while the detector was kept at 250 °C. The total run time was approximately 27 min. Concentrations of individual VFA were estimated in relation to IS using a mixture of VFA standard solutions, all purchased at Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany. The method was validated in terms of specificity, linearity, accuracy, and limit of quantification. The tested validation parameters were found to be within acceptable limits i.e.: peaks corresponding to the analyzed components were well separated; linearity correlation coefficient for each VFA was  $\geq 0.999$ ; variation coefficient between successive samples at the same concentration level was  $\leq 4\%$ ; concentrations of analysed VFA in all rumen samples were higher than a limit of quantification which was set at 10:1 signal-to-noise ratio.

**Supplementary material S2** Methodology and results of quality control tests for biochemical blood indices determination.

In blood serum, the level of BUN (mg/dl) using Liquid Urea Nitrogen (BUN) Reagent Set (no. B7552), BHBA (mmol/l) using  $\beta$ -Hydroxybutyrate (BHB) Reagent Set (no. H7587-58) and total protein (g/dl) using Total Protein (Biuret) Reagent Set (no. T7528) were measured. These kits based on the enzymatic, colorimetric method were purchased from Pointe Scientific INC (Warsaw, Poland).

The determination of blood parameters (BUN, BHBA, total protein) was made in accordance with the manufacturer's instruction, but with some modifications. We used the 96-well plates and reduced the volume of serum and reagents in an appropriate proportion (diluted at 1:1 ratio). After pipetting standards, samples and reagents, the plates were placed in a Thermo Shaker (PST-100 HL, Biosan, Riga, Latvia) and incubated at 37 °C for 5 minutes with gentle shaking (350 rpm). The absorbance of the plate well contents was measured in the Microplate Reader Synergy 2 (BioTek, Biokom, Bad Friedrichshall, Germany) at 37 °C with mixing for 20 seconds before reading. The absorbance for BUN, BHBA, and total protein were measured respectively at 450 nm, 505 nm, and 450nm.

The concentration of non-esterified fatty acids (NEFA) was analyzed according to Duncombe's colorimetric method (Duncombe, 1964) with some modification.

Following reagents were prepared for determination of NEFA level: 1 M triethanolamine, 1 N acetic acid, 6.45% (w/v)  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  (these reagents were used to prepare the copper solution, in a 9:1:10 ratio, respectively) and 0.1% (w/v) sodium diethyldithiocarbamate solution in butanol. All reagents were purchased from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany). Water (as a blank), standard and blood serum were pipetted into properly labeled tubes, then chloroform and the copper solution

were added. The tubes were shaken vigorously for at least 2 min and centrifuged for 20 minutes at 3 500 x g (Thermo Scientific Heraeus Megafuge 40R, Langensfeld, Germany). After centrifugation, the upper (aqueous) phase and a disc of precipitated protein were aspirated leaving the chloroform phase free of particles and the surface clean. The chloroform phase was transferred into new tubes and the sodium diethyldithiocarbamate solution was added and mixed thoroughly. The spectrophotometer (Cecil CE 1021 Low Cost UV/Visible Spectrophotometer from Cecil Instruments, Konica Minolta, Berlin, Niemcy) was zeroed against the blank and the absorbance was measured at 440 nm.

Serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) was analyzed by a radioimmunoassay method (RIA) using the Non-Extraction IGF-1 IRMA DSL-2800 (Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, TX, USA). The concentration of this hormone was determined with isotope J<sup>125</sup> by using the automatic gamma radiation reader (Wizard2 2-Detector Gamma Counter, Perkin Elmer, Hidex, Stow, USA). In this method the peptide being determined is “sandwiched” between two antibodies. The tubes were coated by the first antibody. The second one (Anti-IGF-1 [J-125] Reagent) was radiolabeled for detection. The analytic peptide (IGF-1) presents in blood serum, standards and controls were bound by both of the antibodies to form a “sandwich” complex. Unbound compounds were removed by decanting. The inter- and intra-assay variation was controlled by limiting the coefficient of variation to  $\leq 5\%$  for all blood variables.

**Supplementary Table 2** Effect of method of oat hay provision on rumen fermentation measurements in dairy calves

Item	Time <sup>2</sup>	Treatment <sup>1</sup>				SEM	<i>P</i> -values Treatment
		CON	OH	OH-FC	FC		
VFA <sup>3</sup> proportion (%)							
Acetate	28	48.7	51.2	54.0	49.9	1.54	0.15
	56	49.0	49.4	54.5	46.4	1.04	0.21
	84	49.0	50.4	52.8	50.3	0.88	0.34
Propionate	28	34.6	34.8	30.0	31.3	0.69	0.56
	56	35.0	33.3	28.5	36.1	0.95	0.64
	84	34.6	31.7	30.2	33.5	0.99	0.49
N-butyrate	28	12.8	10.5	12.2	14.3	0.59	0.36
	56	11.6	12.7	12.9	12.9	0.59	0.46
	84	11.6	13.4	12.5	11.9	0.62	0.69
N-valerate	28	2.7	2.3	2.9	3.5	0.29	0.12
	56	3.4	3.7	3.2	3.4	0.27	0.25
	84	3.2	3.6	3.5	2.9	0.40	0.31
Iso-valerate	28	1.3	1.1	0.8	1.0	0.69	0.56
	56	1.1	1.0	0.9	1.2	0.95	0.64
	84	1.5	1.0	1.0	1.4	0.99	0.49

<sup>1</sup> Treatment - CON (control, starter without oat hay), OH (starter feed containing 10% DM basis oat hay), OH-FC (starter feed containing 10% DM basis oat hay and oat hay fed as free-choice provision in different bucket), FC (starter feed and oat hay fed as free-choice provision in different bucket).

<sup>2</sup> Time - age of calf (d).

<sup>3</sup> VFA - volatile fatty acids.

## References

Duncombe WG 1964. The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clinica Chimica Acta* 9, 122-125.

Kononoff PJ, Heinrichs AJ, and DR Buckmaster 2003. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *Journal of Dairy Science* 86, 1858-1863.

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. Animal 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje


Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Mgr inż. Michał Gąsiorek  .....

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Barbara Stefańska.....*Barbara Stefańska*.....

## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

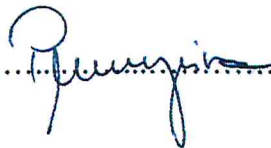
Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek .....



## OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. *Animal* 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Prof. dr hab. Marcin Taciak .....  


## O Ś W I A D C Z E N I E

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. Animal 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Dr hab. Jolanta Komisarek .....  .....

## OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem autorką/autorem publikacji oryginalnej: Gąsiorek Michał, Stefańska Barbara, Pruszyńska-Oszmałek Ewa, Taciak Marcin, Komisarek Jolanta, Nowak Włodzimierz. 2020. Effect of oat hay provision method on growth performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves during preweaning and postweaning periods. Animal 14(10):2054-2062. DOI: 10.1017/S1751731120000774.

### Wkład współautorów w powstanie pracy:

Mgr inż. Michał Gąsiorek (pierwszy autor) – koncepcja badań, metodyka badań, przeprowadzenie doświadczenia, kolekcja prób materiału biologicznego, analiza laboratoryjna materiału biologicznego, założenia analiz statystycznych, opracowanie bazy danych, analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje oraz ostatecznej wersji manuskryptu. Wkład doktoranta w całkowity proces powstania publikacji naukowej - 60%.

Dr hab. Barbara Stefańska - analiza i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje

Dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Marcin Taciak - przygotowanie manuskryptu

Dr hab. Jolanta Komisarek - przygotowanie manuskryptu

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak - koncepcja badań, metodyka badań, przygotowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje, nadzór nad projektem

Poświadczam wkład współautorów i swój w powstanie niniejszej publikacji oryginalnej:

Prof. dr hab. Włodzimierz Nowak .....

