

Doctoral dissertation

*Effect of dietary Paulownia leaves on ruminal
methanogenesis and biohydrogenation in dairy cows*

**Liści Paulowni w regulacji metanogenezy
i biouwodorowania u krów mlecznych**

Haihao Huang

Field of science: Agricultural sciences

Discipline of science: Animal science and fisheries

Poznan University of Life Sciences

Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science

Department of Animal Nutrition

Poznań – Poland

2023

I gratefully acknowledge **The Polish National Science Center, NCN** which funded my experimental research for my dissertation through **the OPUS grant (No. 2016/23/B/NZ9/03427)**



Research grant no. 2016/23/B/NZ9/03427

The publishing process was supported by the **framework of the Ministry of Science and Higher Education program "Regional Initiative Excellence" in 2021, project number: 005/RID/2018/19, task no. 13, Animal Science and Fisheries 3/2021**, which also offered me a chance to conduct the planned experiment of my dissertation.



Abstract

Title: *Effect of dietary Paulownia leaves on ruminal methanogenesis and biohydrogenation in dairy cows*

Paulownia is a genus of fast-growing trees that generate a huge mass of leaves, which can be utilized as a feed resource for ruminants. In the present study, the chemical and phytochemical composition, *in vitro* and *in vivo* ruminal fermentation, methane production, and feasibility of fresh Paulownia hybrid leaves (PL) and its silage (PLS) were investigated based on commercial farm conditions. The crude protein content of PL and PLS ranged from 132 to 199 g/kg dry matter, which was comparable to alfalfa silage (AS). Ensiling of PL increased the amount of both phenolic acids and flavonoids. The amino acid content increased, and total saturated fatty acid concentration tended to increase in PLS compared with PL. In the *in vitro* study with the ruminal fluid (batch culture), PL and PLS decreased pH ($P < 0.01$) and methane emission compared with AS. Total archaea counts were lowest in PLS, intermediate in PL, and highest in AS. *Fibrobacter succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, and *Prevotella* spp. were higher ($P \leq 0.03$) in the PL and PLS than in the AS group. The total gas production and total volatile fatty acid concentrations were higher ($P < 0.01$) in both PL and PLS than in AS. The concentrations of acetate in PL and propionate in PL and PLS were greater than those in AS. The potential degradability of DM was higher ($P < 0.01$) for PL and PLS than for AS. PLS had significantly the greatest potential degradability and effective degradability compared to the other groups ($P < 0.001$). Several variables of the ruminal fluid were changed in response to the inclusion of PLS. The addition of PLS also affected several populations of the analyzed microorganisms. The abundance of protozoa and bacteria was increased, whereas the abundance of archaea was decreased by PLS. Methane production decreased by 11% and 14% in PLS-fed cows respectively. In the PLS-fed cows, a reduction in the milk protein and lactose yield was observed, but no effect on DMI and energy-corrected milk yield. Also, the PLS diet affected the ruminal biohydrogenation process with an increased proportion of C18:3 cis-9 cis-12 cis-15, conjugated linoleic acid, C18:1 trans-11 FA, polyunsaturated fatty acids (PUFA), and reduced n6/n3 ratio and saturated fatty acids (SFA) proportion in milk. The relative transcript abundances of 5 of 6 analyzed genes regulating FA metabolism increased.

Key words: Paulownia leaves, nutritive value, phenolic acids, flavonoids, milk quality, rumen

Streszczenie

Tytuł: *Liści Paulowni w regulacji metanogenezy i biouwodorowania u krów mlecznych*

Paulownia to rodzaj szybko rosnących drzew, które generują ogromną masę liści, które można wykorzystać jako źródło paszy dla przeżuwaczy. W pracy zbadano skład chemiczny i fitochemiczny, fermentację w żwaczu *in vitro* i *in vivo* oraz produkcję metanu, a także przeprowadzono analizę chemiczną liści paulowni w formie świeżej (PL) oraz kiszonki (PLS) w odniesieniu do warunków plantacji. Zawartość białka ogólnego w PL i PLS wahała się od 132 do 199 g/kg suchej masy, co było porównywalne z wartością pokarmową kiszonki z lucerny (AS). Proces kiszenia PL zwiększył ilość zarówno kwasów fenolowych, jak i flawonoidów. Zawartość aminokwasów wzrosła, a całkowita koncentracja nasyconych kwasów tłuszczowych wykazywała tendencję do wzrostu w PLS w porównaniu z PL. W badaniu *in vitro* (batch culture) PL i PLS zmniejszyły wartość pH ($P < 0,01$) w płynie żwacza po inkubacji oraz przyczyniły się do redukcji emisji metanu w porównaniu z AS. Całkowita liczba metanogenów była najniższa w PLS, pośrednia w PL, a najwyższa w AS. *Fibrobacter succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens* i *Prevotella* spp. były statystycznie istotnie wyższe ($P \leq 0,03$) w grupie PL i PLS niż w grupie AS. Całkowita produkcja gazów i całkowita koncentracja lotnych kwasów tłuszczowych były statystycznie istotnie wyższe ($P < 0,01$) zarówno w grupie PL, jak i PLS niż w grupie AS. Stężenia kwasu octowego w PL oraz kwasu propionowego w PL i PLS były wyższe niż w AS. Rozkład suchej masy w żwaczu był wyższy ($P < 0,01$) dla PL i PLS niż dla AS. PLS cechowało się wyższym efektywnym rozkładem białka w żwaczu ($P < 0,001$). Zastosowanie PLS w dawkach pokarmowych dla krów mlecznych wpłynęło na zmiany w wskaźnikach biochemicznych płynu żwacza. Liczebność pierwotniaków oraz bakterii zwiększyła się po zastosowaniu dodatku PLS, podczas gdy PLS zmniejszył liczebność metanogenów. Produkcja metanu zmniejszyła się odpowiednio o 11% i 14% u krów żywionych dawką pokarmową z dodatkiem PLS. Odnotowano zmniejszenie ilości dziennej produkcji białka i laktozy w mleku krów żywionych dawką pokarmową z PLS, ale brak wpływu na wydajność. Ponadto, dawka pokarmowa z PLS wpłynęła na proces biouwodorowania w żwaczu, zwiększając proporcje C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, sprzężonego izomeru kwasu linolowego, C18:1 *trans*-11 FA, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) i obniżoną zawartość n6/n3 oraz zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) w mleku. Zanotowano wzrost względnego poziomu transkryptów w 5 z 6 analizowanych genów regulujących metabolizm FA.

Słowa kluczowe: liście paulowni, wartość odżywcza, kwasy fenolowe, flawonoidy, jakość mleka, żwacz