

Diss. ETH No. 15852

**METHANOGENESIS IN DAIRY COWS AND THEIR SLURRY
AS AFFECTED BY DIET TYPE AND CARBOHYDRATE CHARACTERISTICS**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

Ida Katarina Hindrichsen

MSc. Agricultural Science

The Royal Veterinary & Agricultural University, Copenhagen

born on November 24th, 1973

citizen of Denmark

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Michael Kreuzer, examiner

Prof. Dr. Jørgen Madsen, co-examiner

Dr. Hans-Rudolf Wettstein, co-examiner

Zurich 2005

Zusammenfassung

Methan produziert von Wiederkäuern ist von grosser Bedeutung für die moderne Landwirtschaft, da es auf der einen Seite einen Energieverlust fürs Tier darstellt, und auf der anderen Seite auch als eine wichtige menschlich bedingte Treibhausgasquelle angesehen wird. Das Methan wird produziert von methanogenen Archaea, einer Gruppe von Mikroorganismen die in anaeroben Umgebungen leben, und die vor allem abhängig sind von den Kohlenhydratzersetzungen anderer Mikroorganismen.

Das Hauptziel dieser Dissertation war detailliert zu untersuchen wie verschiedene Kohlenhydrate und Futterrationen sich auf die Methanemission des Verdauungstraktes von Milchkühen auswirkt. Ein weiter Aspekt bestand darin zu untersuchen wie sich die Fütterung auf die Methanemissionen während der Güllelagerung auswirkt. Dieser doppelte Ansatz ist bisher nur selten in der Forschung verfolgt worden, da sich die meisten Studien entweder auf die Methanogenese im Tier beziehen, oder sich auf die Methanogenese während der Güllelagerung beschränken.

Ein erster *in vitro* Versuch wurde ausgeführt mit dem Pansensimulationsystem (Rusitec), in welchen acht verschiedene Futterrationen untersucht wurden, die sich alleine in der Kohlenhydratzusammensetzung des Kraftfutters unterschieden.

Die Futterrationen enthielten entweder einen hohen Anteil an Haferspелzen (reich an lignifizierter Faser), Sojabohnenschalen (reich an Faser), Trockenschnitzel (reich an Hemicellulose und Pektin), Apfeltrester (reich an Pektin), Guarkernmehl (reich an Galaktomannan), Topinambur Wurzeln (reich an Fruktan), Melasse (reich an Saccharose) oder Weizen (reich an Stärke). Die Resultate zeigten, dass Lignin die Methanemissionen im Pansensaft signifikant senkte, während leicht lösbarer Zucker die Emission signifikant erhöhte.

Ein entsprechender *in vivo* Versuch untersuchte sechs von den acht Futterrationen des *in vitro* Versuches – Trockenschnitzel und Guarkernmehl wurden ausgeschlossen. Die Resultate zeigten, dass das im Verdauungstrakt produzierte Methan signifikant gesenkt wurde, wenn Haferspелzen verfüttert wurden, was bei den übrigen Rationen nicht der Fall war. Die Methanemission pro verdaute Faser war hingegen signifikant höher für die Rationen welche reich an leicht lösbarem Zucker waren (d. h. Rationen mit hohem Anteil an Topinambur und Melasse), während die Rationen reich an Fasern (Haferspелzen und Sojabohnenschalen) oder Stärke (Weizen) signifikant tiefer waren. Diese Ergebnisse korrelierten sehr gut mit den Ergebnissen des vorhergehenden *in vitro* Versuches.

Die Messungen der Methanemissionen führten zu der folgenden Regressionsgleichung für die Schätzung der Methanemissionen im Tier:

$$\text{Methan im Tier (g d}^{-1}\text{)} = 91 + 50 \times \text{verdauliche Cellulose (kg TS Tag}^{-1}\text{)} + 40 \times \text{verdauliche Hemicellulose (kg TS Tag}^{-1}\text{)} + 24 \times \text{Stärke (kg TS Tag}^{-1}\text{)} + 67 \times \text{Zucker (kg TS Tag}^{-1}\text{)}$$

Kot und Harn jeder einzelnen Kuh wurden proportional zu der Ausscheidung zusammengemischt und die Methanemission über eine Periode von 14 Wochen gemessen. Die Methanogenese der Gülle produzierte zwischen 16% und 22% der totalen Methanemission. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Methanogenese der Gülle zwischen den einzelnen experimentellen Gruppen pro kg Trockensubstanz Aufnahme der Kühe. Dennoch war die Methanemission der Gülle ähnlich des Verdauungstrakts der Kühe, welches dazu führte, dass die Differenz der Methanemission zwischen der Haferspелzenration und den anderen Rationen noch mehr ausgeprägt war.

Ein Vergleich zwischen dem gemessenen Methan von den Milchkühen in den experimentellen Gruppen des oben beschriebenen *in vivo* Versuches und einer Schätzung der Methanproduktion basierend auf detaillierten Kohlenhydratanalysen wurde mit einem dynamisch mechanistischen Modell durchgeführt. Die gemessene und die geschätzte prozentuale Methanemission per Brutto Energie Aufnahme korrelierte zufrieden stellend, bis auf die Kühe welche mit einer Weizen reichen Ration gefüttert wurden ($r^2=0.37$).

Im zweiten *in vivo* Versuch wurden die Milchkühe mit zwei verschiedenen Grundfutterqualitäten gefüttert, jeweils mit und ohne Kraftfutterzusatz. Das Füttern von Kraftfutter reduzierte die Methanemission des Verdauungstrakts, führte jedoch ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg in der Gülle. Der Anstieg an Methanemissionen in der Gülle von mit Kraftfutter gefütterten Kühen war jedoch nicht so hoch, dass eine Kompensation der reduzierten Methanemission im Verdauungstracht zu vermerken war. Die Methanemission der Gülle im zweiten *in vivo* Versuch war niedriger im Verhältnis zum ersten *in vivo* Versuch, und betrug nur zwischen 7% und 13% der totalen Methanemission.

Zusammenfassend scheint klar, dass Kohlenhydrate einen bedeutend weitreichenden Effekt auf Methan im Verdauungstrakt haben, als die meisten Schätzgleichungen angeben. Speziell leichtlösbarer Zucker hat einen weitaus mehr ausgeprägteren Effekt auf Methan im Verdauungstrakt als bisher angenommen. Die Methanemission in der Gülle von verschiedenen gefütterten Milchkühen war nur leicht beeinflusst von der experimentellen Ration. Tendenziell zeigte es sich jedoch dass Lignifizierung und Fütterung von Kraftfutter einen entscheidenden Einfluss auf die Methanogenese in der Gülle haben können.

Aufgrund der vorliegenden Versuche, eine umfassende Fütterungsstrategie zu entwerfen ist schwierig, da die Daten sich auf nur eine begrenzte Anzahl von Fütterungsstrategien beschränkt und daher weitere Überprüfungen notwendig erscheinen lassen. Dennoch sollte betont werden, dass der Beitrag der Gülle zur totalen Methanemission beträchtlich ist, und deshalb nicht ignoriert werden darf in weiteren Versuch zur Quantifizierung der totalen Methanemission.

Summary

Methane produced by ruminants is of great importance to modern agriculture, since it represents on the one hand an energy loss for the animal, whereas on the other hand it is considered a key anthropogenic greenhouse gas. Methane is produced by methanogenic Archaea, a group of microorganisms living in anaerobic environments, which are mainly influenced by the carbohydrate breakdown performed by other microorganism they live in interaction with. The main objectives of this thesis were to examine in more detail the effect of different carbohydrates and diet types on enteric methane from dairy cows, and to relate these results to the corresponding methanogenesis during slurry storage. This dual approach had been seldom pursued before, since most studies specialise either on methanogenesis in the animal or on methane emission from the slurry.

An *in vitro* experiment was carried out with a rumen simulation technique testing eight diets varying only in the carbohydrate composition of the supplement. The diets contained either high amounts of oat hulls (rich in lignified fibre), soybean hulls (rich in fibre), sugar beet pulp (rich in hemicellulose and pectin), apple pulp (rich in pectin), guar gum (rich in galactomannan), Jerusalem artichoke tubers (rich in fructan), molasses (rich in sucrose) or wheat (rich in starch). The results indicated that lignin significantly decreased, and that soluble sugar significantly increased the methane emission from rumen fluid.

A corresponding *in vivo* experiment examined six out of the eight diets studied in the *in vitro* experiment, excluding sugar beet pulp and guar gum diet. The results showed that enteric methane emission was significantly reduced in dairy cows fed oat hulls compared to feeding the other diets. The methane emission per kg digested neutral detergent fibre, on the other hand, was significantly higher for diets rich in soluble sugar (i.e. diets rich in Jerusalem artichoke and molasses) compared to diets rich in fibre (oat hulls diet and soybean hulls diet) or starch (wheat diet). This observation correlated closely with the observations made in the previous *in vitro* experiment. The calculations based on the digested carbohydrate and lignin intake therefore suggested the following prediction equation for enteric methane:

$$\text{Enteric methane (g d}^{-1}\text{)} = 91 + 50 \times \text{digested cellulose (kg d}^{-1}\text{)} + 40 \times \text{digested hemicellulose (kg d}^{-1}\text{)} + 24 \times \text{digested starch (kg d}^{-1}\text{)} + 67 \times \text{digested sugar (kg d}^{-1}\text{)}$$

The manure and urine of each individual cow were mixed proportionally to the excretion, and their methane emission was measured over a period of 14 weeks. The analyses showed that slurry methanogenesis reached between 16% and 22% of the total methane emission. There was no significant difference of the slurry methanogenesis between the

experimental groups per kg of DM intake of the cows. However, the methane emission in the slurry followed a similar curve as the enteric methane emission, which meant that, with respect to total methane output, the differences between the diets rich in oathulls and the other diets were even more pronounced. Finally, a comparison was made between the observed enteric methane emission from each experimental group and the data predicted by a dynamic mechanistic model using the detailed carbohydrate analysis from the experiment was done. The observed and predicted percentage of methane emission from gross energy intake correlated quite well, except for cows fed the diet rich in wheat ($r^2=0.37$).

In the second *in vivo* experiment dairy cows were fed two different forage qualities, one supplemented with concentrate and one without concentrate. The supplementation of concentrate reduced enteric methane emission significantly, yet it also substantially increased methane emission in the slurry. However, the increased methane emission in the slurry did not fully compensate for the reduced enteric methane emission with those cows fed supplements. The methane emission of the slurry in the second *in vivo* experiment was lower compared to the first *in vivo* experiment, and reached only between 7% and 13% of total methane emission.

To conclude, it has been shown that carbohydrates have a much more distinct effect on enteric methane than most available prediction equations indicate. Especially soluble sugars have a more pronounced effect on enteric methane emission than hitherto assumed. The corresponding methane emission in the slurry from differently fed dairy cows was only slightly affected by the experimental diets. However, there were certain tendencies showing that lignification and supplementation are the main factors determining methanogenesis in the slurry. Reaching a definite recommendation for feeding strategies in general on the basis of these experiments is difficult, since the data were based only on a restricted number of rations fed to animals, and they await therefore further verification. Nevertheless, it should be emphasised that the substantial contribution of slurry to total methane emission means that this source of methanogenesis may not be ignored in further studies quantifying total methane emission.