

DISS. ETH N° 20928

**Feeding flowering plants to dairy cows and their influence on
performance and milk fatty acid profile**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

For the degree of

Doctor of Sciences ETH

Presented by

Tasja Kälber

Diploma in Agricultural Biology, University of Hohenheim, Germany

Born on November 22nd, 1982

In Mühlacker, Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Michael Kreuzer, examiner

Dr. Florian Leiber, co-examiner,

Dr. Håvard Steinshamn, co-examiner

Summary

In present times humanity has to struggle with two major problems: hunger and climate change. The demand for food, especially meat and dairy products, is on the increase in countries of faster economic growth, while on the other hand there is a greater demand for more sustainable production systems. Consumers are more aware of how their food is produced and seem willing to pay more for food, which comes from sustainable production systems. Food produced using organic methods is validated as being healthier. In this context, milk from cows grazing on alpine pastures, is not only appreciated for its sensory characteristics but for the popular belief that it is more “natural” for cows grazing on pastures. Additionally, it has been reported that the fat of alpine milk is of high quality because of its higher content of beneficial fatty acids compared to milk produced in the lowlands. It has been hypothesized that this might be an effect of the biodiversity of the pasture. Another explanation could be so called plant secondary compounds that seem to be elevated when plants are in blossom, which is usually the case on alpine pastures during grazing season. Plant secondary compounds can inhibit different steps of ruminal biohydrogenation of dietary fatty acids and therefore alter their transfer rates from feed to milk. In this project two major goals are pursued. First, the question should be solved if it is possible to produce milk with a fat quality comparable to alpine milk in the lowlands using intensively flowering plants and to validate the nutritive value of those mainly uncommon forage plants. The second aspect, which was analyzed, was the hypothesis that plants in blossom contain higher amounts of plant secondary compounds and therefore result in higher transfer rates of dietary fatty acids to milk due to an altered ruminal biohydrogenation.

The first experiment was designed to answer the question how flowering plants affect milk fat quality. Therefore four different dicotyledonous plants (Berseem clover, buckwheat, chicory and phacelia) were chosen due to their intensively flowering character and their reported high content of plant secondary compounds. They were sown in mixture with ryegrass and a pure ryegrass sward served as control. When intensively flowering, forages were cut and fed ad libitum to six dairy cows in mid-lactation each (n = 30) for 20 days.

Dry matter intake was highest with clover, buckwheat and phacelia, lowest with the chicory and in between with the ryegrass. Milk yield only differed between the chicory (lower) and Berseem clover group, whereas fat content was lowest with the clover treatment and protein content was lowest in the ryegrass group. Both Berseem clover and phacelia feeding resulted in elevated concentrations of α -linolenic acid and linoleic acid in milk fat, mainly due to increased dietary intake of these two fatty acids. The most important finding in this experiment was that transfer rates from feed to milk of the most abundant poly-unsaturated fatty acid in feed, α -linolenic acid, were enhanced in all intensively flowering forages (buckwheat and phacelia) compared to ryegrass. Therefore it seemed that certain metabolites in flowering plants, those seemed to be tannins in case of the buckwheat treatment, affect ruminal biohydrogenation leading to higher transfer rates of α -linolenic acid and linoleic acid. However, this experiment just showed that with the plants used it was possible to produce milk of high milk fat quality, which was in some cases comparable to alpine milk fat quality. But the question whether it was an effect of plants flowering or species differences only could not be solved and was subject for further research.

The second experiment was designed as metabolism trial to analyze the feeding value and suitability of silages containing buckwheat, chicory or phacelia for dairy cows. Furthermore, milk fat quality was assessed and cheese-making properties were examined. Ensiling of phacelia was not successful and it was not included in the experiment. Six late-lactating dairy cows were used per feeding group (buckwheat and chicory) and a group feeding on ryegrass silage served as control (n = 18). The results showed that nutritional quality of buckwheat and chicory silages were inferior to the control and further attempts are required to improve the silage quality of these two catch crop plants. In regard to the performance of the cows no differences were found for feed intake, which leads to the assumption that, even of lower nutritional quality, buckwheat and chicory silages were well accepted by the animals. However, feeding buckwheat silage resulted in elevated efficiency of nitrogen utilization compared to chicory and ryegrass silage. Additionally, feeding silage containing buckwheat has an effect on ruminal biohydrogenation

leading to enhanced transfer rates of α -linolenic acid and elevated contents of the favorable fatty acids rumenic acid and vaccenic acid in the milk fat. When cheese-making properties were tested the coagulation time was shorter and the firmness of the curd tended to be higher with the buckwheat diet in relation to both the chicory and ryegrass diet. So including buckwheat silage in the feeding regimen of dairy cows could lead to enhanced product quality.

A last experiment was conducted to estimate the effect of plant secondary compounds in different vegetation stages on milk fat quality and ruminal biohydrogenation. The original hypothesis was that with advanced age and therefore turning from vegetative stage (non-flowering) to the reproductive stage (flowering), plants would contain higher amounts of plant secondary compounds, affect ruminal biohydrogenation and lead to an increase of ruminal bypass of plant derived poly-unsaturated fatty acids. Buckwheat, chicory and phacelia were cultivated in mixture with ryegrass like in the first experiment, cut daily and fed to six cows in late lactation each (n = 18). Feeding of the fresh forage started in the vegetative stage and continued steadily until plants reached flowering. Our findings could not confirm the original hypothesis that transfer rates of poly-unsaturated fatty acids are enhanced by forages in their reproductive stage due to an increasing content of plant secondary compounds in general. But it was shown that the reproductive stage led to enhanced contents of rumenic and vaccenic acid in milk of the phacelia group which was concomitant with an increase of total tannins in the forage. Therefore it was assumed that certain single plant secondary compounds, which were not analyzed in the project, could influence ruminal biohydrogenation.

The results obtained during the three experiments answered some of the questions that we wanted to solve. So we showed that the selected catch crop plants were all accepted as feed by the dairy cows and can be included in their diets not only as a fresh component but also as silages. However, it has to be stated that the rather low energy density and nutrient composition has to be considered when feeding those plants to high lactating dairy cows and so we cannot recommend feeding them as single feed.

The effect of the chosen catch crop species on milk quality, specifically milk fat quality, was positive and an elevated content of the poly-unsaturated fatty acids α -linolenic acid, linoleic acid, rumenic acid and vaccenic acid, which are considered beneficial for human health, was found in particular for the Berseem clover and the phacelia treatment. Yet, the buckwheat treatment seems to increase the transfer of α -linolenic acid from feed to milk both in fresh and ensiled form. This effect was thought to be related to the content of plant secondary compounds in the experimental plants, but this hypothesis could not be confirmed. However, some results, as the increasing contents of rumenic and vaccenic acid concomitant with a slight increase of plant secondary compounds with the phacelia treatment, give reason to believe that ruminal biohydrogenation of the precursors α -linolenic acid and linoleic acid, was altered.

In general, the outcomes of this project show that the inclusion of the catch crop species buckwheat and phacelia as uncommon feed component for dairy cows could enhance the product quality. In regard to the demand that livestock production systems should be more sustainable and contribute to biodiversity rather than decreasing it, catch crop plants have a high ecological value as well since they can provide a food resource for bees and other insects in times when other resources decline.

Zusammenfassung

Heutzutage steht die Menschheit vor zwei grossen Herausforderungen, die es zu lösen gilt: einer wachsenden Hungersnot und dem Klimawandel. Die Nachfrage nach Lebensmitteln, insbesondere Fleisch- und Milchprodukten, in Ländern mit schnellem Wirtschaftswachstum steigt rasant an, während auf der anderen Seite nach Produktionssystemen verlangt wird, die sich durch eine nachhaltige Produktion auszeichnen. Verbraucher legen immer mehr Wert auf die Herkunft ihrer Nahrungsmittel und scheinen bereit, mehr für Lebensmittel, die aus nachhaltiger Produktion stammen, zu bezahlen. Zusätzlich werden Lebensmittel, die ökologisch produziert werden, als wertvoller und gesünder angesehen. In diesem Zusammenhang wird Alpenmilch nicht nur für ihre geschmacklichen Eigenschaften geschätzt, sondern auch aufgrund der Tatsache, dass es für die Tiere "natürlicher" erscheint auf Weiden zu grasen. Außerdem wurde berichtet, dass das Fett der Alpenmilch wegen seinem höheren Gehalt an für den Menschen wertvollen gesunden Fettsäuren von höherer Qualität ist im Vergleich zu Milch, die in den Niederungen produziert wird. Es wurde vermutet, dass dies ein Effekt der Artenvielfalt der Alpweiden sei und / oder mit so genannten pflanzlichen sekundären Inhaltsstoffen zusammenhängt, die während der Blüte in den Pflanzen erhöht zu sein scheinen. In der Weidesaison auf Almen trifft es häufig zu, dass die Kühe blühende Pflanzen fressen. Sekundäre pflanzliche Inhaltsstoffe können die im Futter vorhandenen Fettsäuren vor ihrem Abbau im Pansen (ruminale Biohydrogenierung) auf verschiedenen Stufen hemmen und können somit ihre Übertragungsrate vom Futter in die Milch beeinflussen. In diesem Projekt wurden zwei Hauptziele verfolgt. Zunächst sollte die Frage gelöst werden, ob es möglich wäre, Milch vergleichbarer Fettqualität wie der von Alpenmilch auch in den Niederungen zu produzieren. Hierbei sollten intensiv blühende landwirtschaftlich genutzte Kulturen als Futter dienen. Im selben Zuge sollte auch deren Eignung und Nährwert als Futter für laktierende Kühe bewertet werden. Der zweite Aspekt, der analysiert wurde, war die Hypothese, dass blühende Pflanzen höhere Mengen an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen besitzen und zu höheren

Übertragungsraten von pflanzlichen Fettsäuren in das Milchfett führten indem sie die ruminale Biohydrogenierung beeinflussten.

Das erste Experiment wurde entworfen, um die Frage zu beantworten, wie blühende Pflanzen die Qualität des Milchfett, insbesondere die Fettsäurezusammensetzung, beeinflussen. Deshalb wurden vier verschiedene zweikeimblättrige Pflanzen (Alexandrinerklee, Buchweizen, Chicorée und Phacelia) aufgrund ihrer intensiven Blüheigenschaft und ihres hohen Gehalts an sekundären pflanzlichen Verbindungen ausgewählt. Sie wurden in einer Mischung mit Welschem Weidelgras ausgesät, welches in Reinkultur auch als Kontrollfutter angebaut wurde. Beim Erreichen der Vollblüte, wurden die Kulturen geerntet und über 20 Tage hinweg an je sechs Milchkühe (Mitte Laktation) ad libitum gefüttert (n = 30).

Die Futterraufnahme (in kg Trockensubstanz) war am höchsten in der Klee-, Buchweizen- und Phaceliagruppe, am niedrigsten in der Chicorée- und intermediär in der Weidelgrasgruppe. Die Milchleistung unterschied sich nur zwischen der Chicorée- (geringer) und der Gruppe mit Alexandrinerklee als Futter, wohingegen der Fettgehalt der Milch in dieser am niedrigsten war. Der Proteingehalt der Milch war mit der Weidelgrasfütterung am niedrigsten. Sowohl die Fütterung von Alexandrinerklee als auch Phacelia führte zu erhöhten Konzentrationen von α -Linolensäure und Linolsäure im Milchfett, was hauptsächlich durch eine hohe Aufnahme dieser zwei Fettsäuren mit dem Futter zu erklären ist. Die wohl wichtigste Erkenntnis dieses Experiments war, dass die Übertragungsrate der in den Futtermitteln am häufigsten vorkommenden mehrfach-ungesättigten Fettsäure, α -Linolensäure, in die Milch durch die intensiv blühenden Futtermittel (Buchweizen und Phacelia im Vergleich zur Weidelgrasfütterung verstärkt wurde. Bestimmte Inhaltsstoffe in den blühenden Pflanzen, im Falle von Buchweizen könnte es sich hierbei um die Tannine halten, scheinen die ruminale Biohydrogenierung zu beeinflussen, was zu höheren Übertragungsraten von α -Linolensäure und Linolsäure führen könnte. Jedoch zeigte dieses Experiment lediglich, dass es mit den hier eingesetzten Pflanzen möglich war, Milch mit einer hohen Milchfettqualität, die in einigen Fällen vergleichbar war mit der Milchfettqualität von Alpmilch, zu erzeugen. Aber die Frage, ob dies auf

einem Effekt des Blühstadiums oder lediglich aufgrund von Artenunterschieden beruhte, konnte mit diesem Experiment nicht gelöst werden und war somit Gegenstand weiterer Forschung.

Das zweite Experiment wurde als Stoffwechselforschung konzipiert, um den Futterwert und die Tauglichkeit von Silagen, die als Hauptbestandteil entweder Buchweizen, Chicorée oder Phacelia enthielten, für Milchkühe zu analysieren. Darüber hinaus wurde die Qualität des Milchfetts beurteilt und die für die Käseherstellung wichtigen Parameter untersucht. Die Silierung von Phacelia war nicht erfolgreich und somit wurde diese Silage nicht im Experiment verwendet. Somit umfasste der Versuch drei Fütterungsgruppen: Buchweizensilage, Chicoréesilage und Weidelgrassilage (Kontrollfütterung) wurden an je sechs Kühe im letzten Laktationsdrittel ad libitum verfüttert (n = 18). Die Ergebnisse zeigten, dass die Qualität der Buchweizen- und Chicoréesilage geringer war als die der Kontrollsilage und deshalb sind weitere Bemühungen erforderlich um die Silagequalität dieser beiden Kulturen zu verbessern. In Bezug auf die Leistung der Kühe konnten keine Unterschiede in der Futteraufnahme gefunden werden, welches die Annahme zulässt, dass, obwohl von geringerer Qualität, Silagen bestehend aus Buchweizen oder Chicorée von den Tieren gut akzeptiert wurden. Allerdings zeigte sich, dass die Fütterung von Buchweizensilage im Vergleich zu Chicorée- und Weidelgrassilage zu einer erhöhten Effizienz der Stickstoffverwertung führte. Zusätzlich hatte die Fütterung Buchweizenenthaltender Silage einen Einfluss auf die ruminale Biohydrogenierung, was eine erhöhte Übertragungsrate von α -Linolensäure und erhöhte Gehalte der wünschenswerten Fettsäuren konjugierte Linolsäure (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) und Vaccensäure im Milchfett zur Folge hatte. Mit Blick auf die getesteten Käseerzeugungsparameter zeigte sich, dass die Milch der Buchweizengruppe eine kürzere Gerinnungszeit hatte und sie tendenziell zu einer höheren Festigkeit des Käsebruchs neigte. Damit kann gesagt werden, dass die Verwendung von Buchweizensilage als Rationsbestandteil für Milchkühe zu einem positiven Effekt auf die Produktequalität führen kann.

Das letzte Experiment sollte schliesslich klären, welchen Effekt sekundäre pflanzliche Inhaltsstoffe unterschiedlicher Vegetationsstadien der Pflanzen auf die Milchfettzusammensetzung und ruminale Biohydrogenierung hätten. Die ursprüngliche Hypothese war, dass mit fortschreitendem Alter und somit dem Übergang vom vegetativen Stadium (nicht-blühend) ins reproduktive Stadium (blühend), die Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen in den Pflanzen zunehmen würden, die wiederum die ruminale Biohydrogenierung beeinflussten und zu einer erhöhten Wiederfindungsrate von pflanzlichen mehrfach-ungesättigten Fettsäuren in der Milch führen könnten. Buchweizen, Chicorée und Phacelia wurden wie schon in Experiment 1 im Gemisch mit Weidelgras angebaut, täglich geerntet und an jeweils sechs Kühe (n = 18) am Ende der Laktation verfüttert. Die Fütterung begann als die Pflanzen noch im vegetativen Stadium waren und wurde kontinuierlich fortgesetzt bis die Vollblüte erreicht wurde. Die Ergebnisse des Experiments konnten die ursprüngliche Hypothese, dass die Wiederfindungsraten von mehrfach ungesättigten Fettsäuren aufgrund eines zunehmenden Gehalt an pflanzlichen sekundären Verbindungen im reproduktiven Stadium der Pflanzen verbessert würden, jedoch nicht mit Bestimmtheit bestätigen. Dennoch konnte gezeigt werden, dass die Fütterung von Pflanzen in ihrer reproduktiven Phase die Gehalte an konjugierter Linolsäure (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) und Vaccensäure in der Milch der Phaceliafütterungsgruppe erhöhte, was mit einem Anstieg von Tanninen im Futter einherging. Dies lässt vermuten, dass einzelne sekundäre pflanzliche Inhaltsstoffe, die in diesem Projekt nicht untersucht wurden, einen Einfluss auf die ruminale Biohydrogenierung haben.

Die in diesen drei Experimenten gewonnenen Ergebnisse beantworten einige der Fragen, die zu Anfangs gestellt wurden. So konnten wir zeigen, dass die ausgewählten Zwischenfrüchte von den Milchkühen alle als Futter akzeptiert wurden und nicht nur als frische Komponente, sondern auch als Silagen in ihrer Ernährung eingesetzt werden können. Jedoch muss deutlich gemacht werden, dass der Energiegehalt und die Nährstoffzusammensetzung dieser Pflanzen den Ansprüchen hoch laktierende Kühe wohl nicht genügt und somit ist der Einsatz als Alleinfuttermittel nicht zu empfehlen. Die Wirkung der gewählten Zwischenfruchtarten auf die

Milchqualität, insbesondere die Milchfettqualität, war positiv und führte zu erhöhten Gehalten der mehrfach-ungesättigten Fettsäuren α -Linolensäure, Linolsäure, konjugierte Linolsäure (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) und Vaccensäure, die als wertvoll für die menschliche Gesundheit gelten, was insbesondere in den Fütterungsgruppen von Alexandrinerklee und Phacelia festgestellt wurde. Jedoch scheint die Fütterung mit Buchweizen die Transferrate von α -Linolensäure vom Futter ins Milchfett zu erhöhen was sowohl als Futter in frischer Form als auch als Silage gilt. Es wurde angenommen, dass dieser Effekt mit dem Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen in den Versuchspflanzen zusammenhänge, aber diese Hypothese konnte nicht eindeutig bestätigt werden. Trotzdem geben einige der Ergebnisse Grund zur Annahme dass die ruminale Biohydrogenierung von aus dem Futter stammender α -Linolensäure und Linolsäure verändert wird. Dies zeigte sich bei der Verfütterung von Phacelia unterschiedlicher Vegetationsstadien, denn einhergehend mit einem steigenden Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen stiegen auch die zwei wichtigsten Biohydrogenierungsprodukte von α -Linolensäure und Linolsäure, konjugierte Linolsäure (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) und Vaccensäure, im Milchfett an.

Im Allgemeinen zeigen die Ergebnisse dieses Projekts, dass die Einbeziehung der Zwischenfrüchte Buchweizen und Phacelia, so ungewöhnlich sie als Komponente in Milchviehrationen auch auf den ersten Blick scheinen mögen, eine Verbesserung der Produktqualität bewirken können. In Bezug auf die Forderung, dass tierische Produktionssysteme nachhaltiger produzieren und dazu beitragen sollten, die biologische Vielfalt eher zu fördern als zu vermindern, haben blühende Zwischenfrüchte auch einen hohen ökologischen Wert als Nahrungsressource für Bienen und andere Insekten in Jahreszeiten, in welchen deren Nahrungsquellen zur Neige gehen.