

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne masteroppgaven setter punktum for fem flotte år med studier ved Universitetet for miljø og biovitenskap. Jeg valgte tidlig å gå retning drøvtyggerernæring pga. min interesse for storfe. Det var derfor ikke vanskelig å bestemme seg for oppgave når anledningen bød seg for å skrive innenfor ernæring på storfe. I tillegg fikk jeg være med på gjennomføringen av forsøket, noe som var spennende og lærerrikt.

I løpet av arbeidet med masteroppgaven har jeg fått god veiledning og hjelp fra mange. Først og fremst en stor takk til hovedveileder Odd Magne Harstad som har gitt meg konstruktive og gode tilbakemeldinger gjennom hele skriveprosessen. En stor takk må også rettes til biveileder Egil Prestløkken for god hjelp med statistiske beregninger og for veiledning med oppgaven. En takk går også til Tonje Marie Storlien som har stilt med resultater og Arild Helberg som har svart på spørsmål.

Takket være gode venner, medstudenter og ikke minst Sangkoret Noe ganske Annet har jeg i tillegg til å studere hatt fem år med vanvittig mye moro. Takk til familie for god støtte gjennom hele studietiden og tantungene mine som det alltid er like kjekt å være sammen med. Tusen takk til Janne og Maren som tok seg tid til å lese korrektur.

En spesiell takk til mine samboere i Hellinga 30 for å være der når jeg har kommet hjem fra skolen og vil prate om hva som helst, og for rett og slett ha vært herlige folk å bo sammen med.

Sist men ikke minst, er jeg evig takknemlig for oppmuntring, gode diskusjoner, lunsjpauser og middagspauser sammen med Kari Marie og Linn Hege på lesesalen, det har vært uvurderlig for å komme igjennom dette semesteret med oppgaveskriving.

Institutt for Husdyr- og Akvakulturvitenskap

Ås, mai 2011

Maria Risdal

Sammendrag

Hovedmålet med masteroppgaven var å se på effekten av fetttilskudd i form av rapsfrø i kraftfôret på produksjonen av metan (CH_4) hos melkekyr på beite. Masteroppgaven består av en litteraturredel og en forsøksdel.

Landbruket står for 8,2 % av de nasjonale klimagassutslippene, der omtrent 60 % stammer direkte fra husdyrhold. CH_4 -produksjon fra drøvtyggere har stor betydning for klimagassutslippene fra landbruket og et redusert utslipp vil bidra til å redusere de nasjonale klimagassutslipp. Produksjon av CH_4 er en naturlig konsekvens av fermentering i vomma og utgjør et energitap på 2-12 % av bruttoenergiinntaket hos drøvtyggere. Fôring, både med hensyn til kvalitet, mengde og sammensetning kan påvirke produksjonen av CH_4 . Effekten er hovedsakelig gjennom en endret produksjon av smør-, eddik- og propionsyre. Tilskudd av fett, saponiner, tanniner, nitrat eller eteriske oljer i rasjonen har vist statistisk signifikant reduksjon av CH_4 -produksjon, men effekten varierer med mengde tilsatt og kilde.

Produksjon av CH_4 kan måles ved bruk av ulike metoder, bl.a. ved bruk av respirasjonskammer eller ved bruk av svovelheksafluorid (SF_6) teknikken. SF_6 -teknikken er i praksis den eneste metoden som kan benyttes ved forsøk på beite.

Hensikten med forsøket i denne oppgaven var å undersøke kort- og langtidseffekten av ekstra fetttilskudd i form av rapsfrø på produksjon av CH_4 . Forsøket ble utført sommeren 2010 ved sommerfjøset til Senter for Husdyrforsøk, UMB. Åtte kyr på beite, hvorav fire fistulerte, ble delt i to like grupper. To typer kraftfôr ble benyttet, et kontrollkraftfôr og et forsøkskraftfôr som var tilsatt ekstra fett i form av 10 % rapsfrø. Mengden tildelt kraftfôr ble tilpasset etter ytelse. Raps er den eneste typen oljefrø som kan dyrkes i mengder av betydning i Norge, og er derfor interessant ved forsøk under norske forhold. For å måle CH_4 ble SF_6 -teknikken benyttet. Kyr med fistel hadde, sammenlignet med kyr uten fistel, en statistisk signifikant ($P < 0,05$) høyere gjennomsnittlig produksjon av CH_4 uttrykt som g/dag og g/kg tørrstoff (TS) kraftfôr, henholdsvis 314 vs. 247,7 g/dag og 38,8 vs. 30,5 g/kg TS kraftfôr. Tilskudd av raps viste ingen effekt ($P > 0,05$) på produksjon av CH_4 fra Periode 1 til Periode 2, men gav en statistisk signifikant ($P < 0,05$) reduksjon av CH_4 uttrykt som g/kg energikorrigert melk (EKM) i Periode 1 og 4, med 9,7 g/kg EKM for kyr på forsøksfôr vs. 11,4 g/kg EKM for kyr på kontrollkraftfôr. Det var en tendens til reduksjon av CH_4 i Periode 1 og 4 uttrykt som g/dag ($P = 0,053$).

Abstract

The main objective of this master thesis was to investigate the effect of fat supplement, given as rapeseed, on methane (CH₄) emissions from grazing ruminants. The master thesis consists of a literature study and an experimental part.

Agriculture contributes to 8.2 % of the domestic mitigation of greenhouse gasses, where approximately 60 % is directly related to livestock. Ruminants contribute significantly to the agricultural CH₄ production, and consequently to the national mitigation of greenhouse gasses. CH₄ production is a natural consequence of the fermentation in the rumen and accounts for 2-12 % of the gross energy intake in ruminants. Feeding, with regards to quality, amount fed and composition can influence the production of CH₄. The effect is mainly through altered production of butyric-, acetic- and propionic acid. Supplements of fat, saponins, tannins, nitrate or essential oils has shown significant reduction in CH₄ production, but the effect is dependent on amount added and source of the supplement.

Production of CH₄ can be measured with different methods, for example respiration chamber or the sulphur hexafluoride (SF₆) technique. The SF₆-technique is the only feasible method to use in pasture trials.

The purpose of the trial for this thesis was to investigate the short- and long-term effect of extra fat supplementation given as rapeseed on the production of CH₄. The trial was conducted summer 2010 at the Centre for Animal research, UMB's summerbarn. The trial was on pasture with eight lactating dairy cows, where 4 of them were fistulated. Two types of concentrate was used, one control and one concentrate supplemented with fat given as 10 % rapeseed. The amount of concentrate fed was adjusted according to daily milk yield. Rapeseed is the only oilseed possible to grow in significant amounts in Norway, and is therefore of interest in trials conducted in Norwegian environmental conditions. CH₄ emission was measured using the SF₆-technique. Fistulated cattle had a statistical significant higher average CH₄ production (g/day and g/kg dry matter (DM) concentrate) than non-fistulated cattle, 314.0 vs. 247.7 g/day and 38.8 vs. 30.5 g/kg DM concentrate, respectively. Supplementation of rapeseed did not give a significant reduced (P > 0.05) CH₄ production in Period 1 and 2, but there was a significant reduction (P < 0.05) in CH₄ emission expressed as g/kg energy corrected milk (EKM) in Period 1 and 4 with 9.7 g/kg EKM for cows on experimental concentrate and 11.4 g/kg EKM for cows on control concentrate. There was a tendency for reduced CH₄ emission expressed as g/day (P = 0.053).

Innholdsfortegnelse

Sammendrag.....	II
Abstract	III
1.0 Innledning.....	1
2.0 Produksjon av CH ₄	3
2.1 CH ₄ -produserende mikroorganismer	3
2.2 Produksjon av H ⁺ og omdannelse til CH ₄	4
2.3 Faktorer som påvirker produksjonen av CH ₄	6
2.3.1 Faktorer ved dyret	6
2.3.2 Egenskaper ved fôret.....	7
2.3.2.1 Karbohydrater	7
2.3.2.2 Protein.....	7
2.3.2.3 Fett.....	8
2.3.2.4 Rasjonssammensetning og fôrnivå.....	8
2.3.3 Tilsetninger.....	11
2.3.3.1 Fumarat.....	11
2.3.3.2 Saponiner og tanniner.....	12
2.3.3.3 Nitrat.....	13
2.4 Fett i rasjonen.....	14
2.4.1 Litt generelt om fett i fôr	14
2.4.2 Hovedprinsippene ved omsetningen av fett i vomma	15
2.4.3 Effekt av fett på sammensetning i melk og melkeytelse	16
2.4.4 Effekt av fett på produksjon av CH ₄	17
2.4.5 Effekt av ulike fettkilder på produksjon av CH ₄	17
2.4.6 Bruk av raps	19
2.5 Kort om metoder for å måle CH ₄ -produksjonen	19
2.5.1 Respirasjonskammer	20
2.5.2 SF ₆ -metoden	20
2.5.3 Sammenligning av metodene	21
3.0 Egne undersøkelser.....	22
3.1 Material og metode	22
3.1.1 Forsøksdyr.....	22

3.1.2	Forsøksopplegg/behandling	23
3.1.3	Fôr og fôring.....	24
3.1.4	Målinger, prøvetaking og analyser.....	26
3.1.5	Måling av CH ₄	28
3.1.6	Beregninger	30
3.1.7	Analyser	30
3.1.8	Statistiske beregninger og statistisk oppgjør	31
3.2	Resultater.....	33
3.2.1	Kjemisk sammensetning av kraftfôr og beite.....	33
3.2.2	Opptak av kraftfôr	34
3.2.3	Ytelse.....	35
3.2.4	Produksjon av CH ₄	36
3.2.5	Vektendring	43
3.3	Diskusjon	44
3.3.1	Metode.....	44
3.3.2	Effekt av rapsfrø på produksjon av CH ₄	47
3.4	Konklusjon	49
4.0	Referanser.....	50
	Vedlegg 1.....	57

1.0 Innledning

Utslippet av klimagasser er økende. Fra 1970 frem til 2004 økte utslipp forårsaket av menneskelig aktivitet med hele 70 % (IPCC 2007). I følge IPCC (2007) har dette økt gjennomsnittstemperaturen, både i luft og i vann, noe som igjen har hatt en effekt på økosystemer. Klimagassene består hovedsakelig av karbondioksid (CO_2), metan (CH_4), lystgass (N_2O) og halokarboner (kjemisk forbindelse som inneholder fluor, klor eller brom). Av disse utgjør CH_4 en betydelig del med 14,3 %, men CO_2 utgjør størsteparten med hele 77 % beregnet som CO_2 -ekvivalenter (IPCC 2007).

De menneskeskapte utslippene deles inn i sektorer etter opprinnelse; energiforsyning, transport, offentlige og private bygninger, søppel og ødemark, industri, jordbruk og skog. Jordbruket bidrar med 13,5 % av de globale klimagassutslippene (IPCC 2007). Det foregår en kontinuerlig CO_2 -utveksling mellom atmosfæren og jordbruksarealer. Balansen mellom opptak og utslipp i dette kretsløpet antas å være null forutsatt at det ikke er menneskelige inngripen. Prosessene i landbruket som gir nettoutslipp av klimagasser og som har innvirkning på klimaet er (St.meld. nr 39 2008-2009):

- Endring i karbonlageret i jordbruksjord, eller endringer i arealbruk.
- Utslipp av CH_4 gjennom at organisk materiale brytes ned i oksygenfattige omgivelser, slik som i fordøyelsen hos drøvtyggere og ved lagring av husdyrgjødsel.
- Utslipp av N_2O gjennom mikrobiell omdanning av nitrogen i jord og gjødsel.

Nasjonalt bidrar landbruket med 8,2 % av de totale klimagassutslippene (Statistisk Sentralbyrå 2009b), og av dette stammer omtrent 60 % direkte fra husdyrholdet (Harstad & Volden 2009). 85 % av CH_4 -utslippene fra norsk landbruk skyldes husdyrhold (St.meld. nr 39 2008-2009; Statistisk Sentralbyrå 2009a), og en reduksjon i utslippet av CH_4 fra drøvtyggere vil dermed kunne bidra betydelig til å redusere utslippet av CH_4 fra landbruket.

I tillegg til å være en klimagass, er CH_4 også en energikilde. Tapet av energi gjennom CH_4 utgjør 2-12 % av bruttoenergiopptaket (Johnson & Johnson 1995). Et redusert tap av energi i form av CH_4 gir derfor en direkte økonomisk gevinst pga. en økt fôreffektivitet (Beauchemin & McGinn 2006; Janssen 2010). Det er flere forhold ved fôret og fôringa som påvirker produksjonen av CH_4 ; fordeling av smørsyre, eddiksyre og propionsyre (flyktige fettsyrer = VFA), kraftfôr: grovfôr forhold, næringsstoffsammensetning og fôr kvalitet (Aaes et al. 2003;

Garmo et al. 2009; Jentsch et al. 2007; McAllister et al. 1996). Økt innhold av fett i fôrrasjonen ser ut til å ha en reduserende effekt på produksjonen av CH₄ (Kumar et al. 2009). Dette skyldes antagelig at særlig langkjedete, umetta fettsyrer bidrar til å øke andelen av propionsyre, og ved at de har en direkte toksisk effekt på CH₄-produserende bakterier (metanogener) (McAllister et al. 1996). Det er imidlertid viktig å være klar over at fett i fôrrasjonen også har betydning på fettsyresammensetningen i melka så vel som innholdet av fett og ytelse.

Rapsfrø er den eneste vegetabiliske fettkilden som i praksis kan dyrkes i betydelige mengder i Norge. Rapsfrø har et fettinnhold på omtrent 45 % hvorav oljesyre (C18:1) utgjør omtrent 60 % av fettsyrene (Fôrtabell: raps- og rybsfrø 2008).

Hovedhensikten med denne masteroppgaven var å diskutere effekten av å tilsette ekstra rapsfrø i kraftfôret på produksjonen av CH₄ hos kyr som går på beite. Masteroppgaven består av to deler. En litteraturredel og en forsøksdel. Teoridelen omhandler produksjonen av CH₄ og faktorer som kan påvirke produksjonen av CH₄. Det blir i teoridelen lagt størst vekt på ulike sider knyttet til bruk av rapsfrø i forhold til produksjonen av CH₄. Forsøksdelen omfatter et forsøk med melkekyr på beite hvor rapsfrø i kraftfôret var forsøksfaktor.

2.0 Produksjon av CH₄

Ved fullstendig nedbryting av organiske forbindelser til CO₂ og H₂O kreves det oksygen som endelig elektronakseptor. Miljøet i vomma er anaerob og ved fermentering i vom foregår det en ufullstendig nedbryting av fôret til flyktige fettsyrer, CO₂ og det dannes et overskudd av hydrogen (H₂) (Kristensen et al. 2003; Nørgaard & Hvelplund 2003b). Mikroorganismene i vom er satt sammen av flere ulike arter av bakterier, archaea, protozoa og sopp. De utgjør en varierende andel av mikrobepopulasjonen i vomma, bakterier utgjør 50-90 % (10¹⁰ per ml), protozoa 10-50 % (10⁶ per ml) og sopp 5-10 % (10⁴ per ml) (McDonald et al. 2002a; Sjaastad et al. 2003). Det finnes lite informasjon om innholdet av archaea i vom, men Kumar et al. (2009) oppgir et antall på 10⁸-10⁹ per ml. Fermenteringsproduktene er hovedsakelig VFA (eddiksyre, smørsyre og propionsyre), men format, etanol, laktat, succinat og forgrenede flyktige fettsyrer blir også dannet. I tillegg blir gassene ammoniakk (NH₃), CO₂ og H₂ produsert (Janssen 2010). Restproduktene ved fermentering, H₂ og CO₂, blir brukt av metanproduserende organismer (metanogener) for å skaffe seg energi i form av ATP (Kumar et al. 2009) og det dannes CH₄ (Miller 1995). Slik holdes hydrogenkonsentrasjonen i vom på et lavt nivå, noe som er nødvendig for at ikke fermenteringen skal stoppe opp (Bhatta et al. 2009).

2.1 CH₄-produserende mikroorganismer

Produksjon av CH₄ er et naturlig resultat av den mikrobielle omsetningen av karbohydrater og proteiner i fordøyelseskanalen hos drøvtyggere (Aaes et al. 2003). De CH₄-produserende organismene er en stor, variert og godt studert undergruppe av *Archaeobacteria* (Ferry 1993) og karakteriseres ved at de har evnen til å produsere CH₄ under anaerobe forhold. Substratet som metanogener i vom bruker er hovedsakelig H₂, CO₂ og format (Zinder 1993) fra bakterier, anaerobe sopp og protozoa (Kumar et al. 2009). Eddiksyre blir også brukt som substrat ved at molekylet splittes, karboksylgruppen oksideres til CO₂ og metylgruppen (CH₃) reduseres til CH₄ (Boone et al. 1993). Denne prosessen spiller liten rolle i vomma og utgjør ikke et signifikant bidrag til produksjonen av CH₄ (VanKessel & Russell 1996). I vom er det et symbiotisk forhold mellom hydrofobe (vannavstøtende) metanogener og hydrogenproduserende mikroorganismer som normalt oppstår ved at de "fester seg sammen" (Kumar et al. 2009).

Det finnes tre ulike celletyper som er delt inn i hver sitt rike; Eukarya, Bacteria og Archaea. Archaea og Bacteria er prokaryoter, men Archaea skiller seg fra Bacteria ved at de mangler peptidoglycaner i celleveggen (Tortora et al. 2007). Ifølge Tortora et al. (2007) er membranlipidene til archaea forgrenede karbonkjeder som er bundet til glycerol via en eterbinding. Bakteriene har derimot rette karbonkjeder som er bundet til glycerol via en esterbinding. Archaea og Bacteria har ulikt rRNA og ulik aminosyre som starter proteinsyntesen, henholdsvis metionin og formylmetionin.

Metanogener har en rask vekstrate slik at de unngår å bli skylt ut av vomma. Den største slekten av hydrogenotrofe metanogener i vomma er *Methanobrevibacter*, der noen er assosiert med protozoa (Zinder 1993). *Methanobrevibacter ruminantium* og *Methanosarcina barkeri* er antatt å ha størst betydning av de metanogene bakteriene i vom, og utgjør over 10^6 per ml (Kumar et al. 2009).

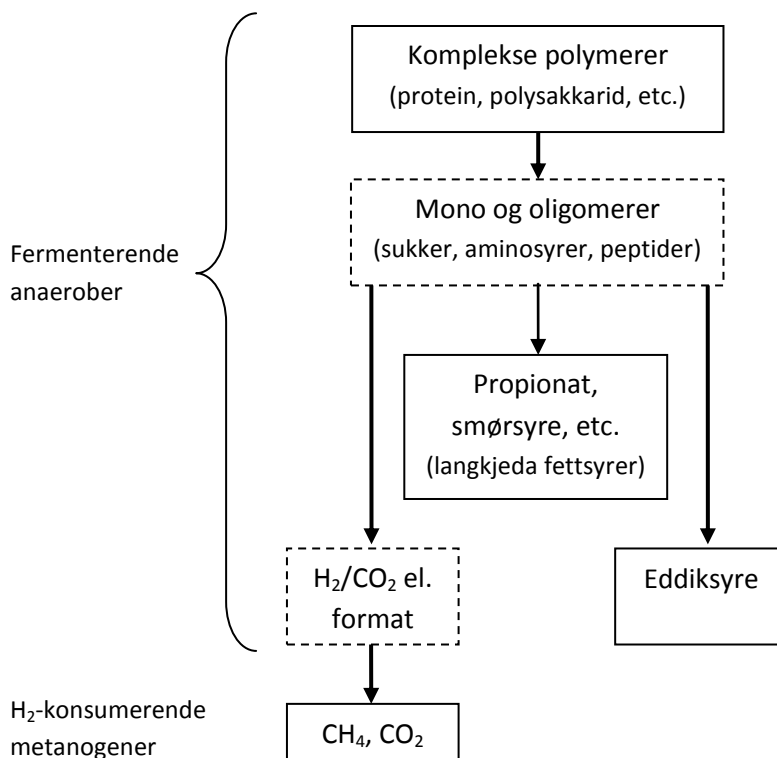
Metanogenene som bruker eddiksyre som substrat vokser langsomt og blir derfor skylt ut av vomma. Dette hindrer at eddiksyre, som er den viktigste energikilden for drøvtyggere, blir brutt ned og nyttet av bakterier istedenfor av dyret selv (Zinder 1993).

Protozoene i vom spiller en viktig rolle ved produksjon av CH_4 , spesielt på rasjoner med stor andel grovfôr (Johnson & Johnson 1995). I følge Holtshausen (2009) lever 25 % av metanogenene i assosiasjon med protozoer. Det er godt dokumentert både i *in vitro* forsøk og *in vivo* forsøk at protozoer bidrar til å øke produksjonen av CH_4 (Schönhusen et al. 2003). Denne effekten skyldes bl.a. at protozoer bidrar til å øke andelen av eddik- og smørsyre på bekostning av propionsyre (Schönhusen et al. 2003). Betydningen som gjæringsmønsteret i vomma har på produksjonen av CH_4 blir nærmere diskutert nedenfor.

2.2 Produksjon av H^+ og omdannelse til CH_4

H^+ blir dannet ved produksjon av VFA under fermentering av protein og karbohydrater. Under fermenteringen blir glukose og andre monosakkarider brutt ned til pyruvat og laktat, og NAD^+ blir omdannet til NADH (Sjaastad et al. 2003). Metanogene bakterier reduserer CO_2 med H^+ og danner CH_4 . Dermed hindres en akkumulering av hydrogen i vom (Kumar et al. 2009), NADH reoksideres tilbake til NAD^+ og fermenteringen stopper ikke opp (Bhatta et al. 2009). I animalske celler blir NAD^+ regenerert med tilgang på oksygen. Vomma er anaerob, og NADH må derfor oksideres via andre prosesser enn ved reoksidering i animalske celler.

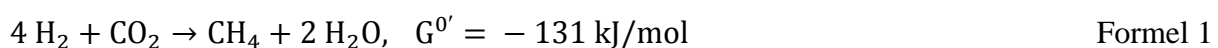
Nitrat er en annen hydrogenmottaker i vom (Sjaastad et al. 2003), noe som blir diskutert senere i oppgaven. Dannelse av CH₄ er vist skjematisk i Figur 1.



Figur 1. Flyt av karbon i vom til det blir skilt ut som CH₄ (Zinder 1993).

Under reduksjon av CO₂ skjer det en serie av fire to-elektron reduksjoner for å omdanne CO₂ til CH₄. De fleste metanogener kan bruke H₂ som elektronkilde, og for noen er H₂ den eneste kilden til elektroner. H₂ er et restprodukt fra metabolismen hos mikroorganismer og er en vanlig H₂-kilde for metanogene bakterier.

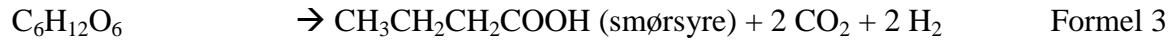
Under vises reaksjonsligningen for reduksjon av CO₂ til CH₄ og mengden energi som blir frigjort under reaksjonen (Thauer et al. 1993).



Reduksjonen av CO₂ til CH₄ skjer via koenzym-bundne C₁-intermediater. Reaksjonen involverer også flere elektronbærere. Man kan formulere syv delreaksjoner, med koenzym i hver reaksjon, i reduksjonen av CO₂ til CH₄ (Thauer et al. 1993), uten at dette skal diskuteres nærmere her.

Ulike karbohydratkilder gir ulike VFA; eddiksyre, smørsyre, propionsyre eller andre mindre kvantitativt viktige fettsyrer. Stivelse gir høy andel propionsyre, mens fiber gir mer eddiksyre.

Hvilken type VFA som produseres har betydning for hvor mye H^+ som dannes og er tilgjengelig for CH_4 -produksjon i vom, se Formel 2, 3 og 4 (Aaes et al. 2003).



Ved produksjon av propionsyre er det et forbruk av H_2 , noe som resulterer i en lavere produksjon av CH_4 . Produksjon av eddiksyre og smørsyre fra et glukosemolekyl resulterer i henholdsvis 4 H_2 og 2 H_2 , og bidrar dermed med substrat til metanogener og en høyere produksjon av CH_4 (Aaes et al. 2003).

2.3 Faktorer som påvirker produksjonen av CH_4

Syntesen av CH_4 fungerer som en elektronmottaker for H_2 fra alle mikroorganismene i vomma. Produksjon av CH_4 gir dermed totalt sett et større utbytte av ATP enn om det ikke hadde foregått en slik produksjon av CH_4 .

Mengden CH_4 som produseres er prinsipielt bestemt av hvor mye H_2 som produseres og hvor mye av denne som omdannes til CH_4 . Produksjon av H_2 er som diskutert ovenfor bestemt av VFA-produksjonen, spesielt forholdet mellom de ulike VFA (se Formel 2, 3 og 4). Endringer i fermenteringsmønsteret i vomma som et resultat av endret fôrrasjon er antageligvis den viktigste årsaken til endring i produksjon av CH_4 (Kumar et al. 2009). Produksjonen av CH_4 er dermed påvirket av egenskaper ved dyret, fôret og fôringa som virker inn på forholdet mellom VFA og/eller forbruket av H_2 . Dette blir nærmere diskutert nedenfor.

2.3.1 Faktorer ved dyret

Produksjon av CH_4 varierer mye mellom dyr. I følge Lasseby et al. (1997) skyldes hele 87 % av variasjonen i utslipp av CH_4 variasjon mellom enkeltdyr. Hva denne variasjonen skyldes er uklart. Vommiljøet er forskjellig mellom dyr, og de vil dermed ha ulik produksjon av VFA og ulik produksjon av CH_4 . Utslipet av CH_4 varierer med årstid og fysiologisk tilstand. Med fysiologisk tilstand menes laktasjonsstadium og om kua er drektig og hvor langt ut i drektigheten den er (Lasseby et al. 1997). Disse forskjellene kan i hovedsak trolig relateres til egenskaper ved fôret og fôringa (Münger & Kreuzer 2006).

I et forsøk utført med Holstein, Jersey og Simmental kyr var det ingen forskjell mellom rase i utslipp av CH₄ uttrykt per kg tørrstoffopptak. Simmental hadde et høyere utslipp av CH₄ per kg energikorrigert melk (EKM) enn de andre rasene, men dette kan forklares med et lavere forhold mellom ytelse og kroppsvekt. Mye vedlikeholdsfor i forhold til produksjonsfor vil øke produksjonen av CH₄ beregnet per enhet melk (Münger & Kreuzer 2006).

2.3.2 Egenskaper ved fôret

Forholdet mellom VFA, og følgelig produksjonen av H₂, er påvirket av kjemisk sammensetning av fôret. Jentsch et al. (2007) oppgir følgende verdier for CH₄-produksjon per enhet fordøyd næringsstoff i en rasjon:

- Råfiber; 3,78
- Råprotein (CP); 1,62
- Råfett; 0,38
- Nitrogenfrie ekstraktstoffer (NFE); 1,49

2.3.2.1 Karbohydrater

Fiber (celleveggstoffer = NDF) utgjør en stor andel av rasjonen til drøvtyggere, og er også den fraksjonen som har størst effekt på produksjon av CH₄. Produksjonsraten av CH₄ er bestemt til å være 2,6 ganger høyere per enhet fordøyelig fiber enn per enhet fordøyelig CP og NFE (Jentsch et al. 2007). NFE defineres som en differanse (100 – aske – fett – protein – råfiber). Det er imidlertid forskjeller mellom type karbohydrater. Produksjonen av CH₄ er større per enhet cellulose enn per enhet stivelse eller sukker (Kirchgesner et al. 1995). I rasjoner med et høyt innhold av stivelse går fermenteringen mot økt produksjon av propionsyre, det vil si økt forbruk av H₂ og lavere produksjon av CH₄ (Kirchgesner et al. 1995; McAllister et al. 1996). Hvordan sukker slår ut på CH₄-produksjonen beror på gjæringsmønsteret. Med mye propionsyre blir CH₄-produksjonen lavere enn ved fermentering som gir høy andel propionsyre.

2.3.2.2 Protein

Protein bidrar til produksjon av CH₄, men ikke i like stor grad som NDF (Jentsch et al. 2007). I følge Kirchgesner et al. (1995) forklarer protein lite av produksjonen av CH₄ i vom (10 %) ved en rasjon som gir tilstrekkelig protein i forhold til omsettelig energi. Mengden nitrogen i gras påvirkes gjennom N-gjødsling. Bannink et al. (2010) fant i et simuleringsforsøk

indikasjoner på at et høyt innhold av protein i gras pga. at sterk N-gjødsling gav redusert produksjon av CH₄. Dette skyldes at CP gir mindre produksjon av VFA sammenlignet med karbohydrater (Sveinbjörnsson et al. 2006). Ved et innhold av NDF på under 16 % av tørrstoffet eller med mindre enn 12 % CP i tørrstoffet vil det bli en nedsatt produksjon av CH₄, hovedsakelig på grunn av mangel av energi eller nitrogen til mikrobene og skjevfordeling av forholdet mellom energi og nitrogen. En slik rasjon vil også gi nedsatt produksjon og vil kunne påvirke dyrenes helsetilstand. (Kirchgessner et al. 1995)

2.3.2.3 Fett

Fett reduserer produksjonen av CH₄. I vom blir fett brutt ned fra triglycerider til glycerol og frie fettsyrer. Fettsyrene blir bare i liten grad fermentert av mikroorganismene. De umetta fettsyrene blir i stor grad hydrogenert og under biohydrogeneringen i vom forbrukes H₂, men prosessen har likevel relativt liten effekt på produksjonen av CH₄ (McAllister et al. 1996). De langkjedete fettsyrene, spesielt de umetta, er direkte toksiske for metanogener, protozoa og de cellulolytiske bakteriene. Lange metta og umetta fettsyrer hemmer nedbrytingen av fiber, som fører til en redusert produksjon av smørsyre, eddiksyre og H₂. Gjæringsmønsteret går mot en større andel propionsyre, og dermed en lavere produksjon av CH₄ (McAllister et al. 1996). Fett har en betydelig effekt på produksjonen av CH₄, med en reduksjon på 212 g CH₄ per kg eterekstrakt (Kirchgessner et al. 1995).

2.3.2.4 Rasjonssammensetning og fôrnivå

Grovfôr:kraftfôr:

Grovfôr:kraftfôr forholdet påvirker produksjonen av CH₄ ved at eddiksyre:propionsyre forholdet endres. Et lavt grovfôr:kraftfôr forhold vil forskyve gjæringsmønsteret mot mer propionsyre og mindre eddiksyre og smørsyre (Aaes et al. 2003). Med over 90 % kraftfôr i rasjonen utgjør utslippet av CH₄ 2-3 % av bruttoenergien i fôrrasjonen, mot så mye som 6-12 % ved en grovfôrbasert rasjon (Kumar et al. 2009). Effekten av forholdet grovfôr:kraftfôr på produksjonen av CH₄ kan også dels relateres til lavere pH ved en kraftfôrrik rasjon. Lav pH kan per se hemme de metanogene bakteriene og protozoa, og produksjonen av VFA går mot en økt andel propionsyre (McAllister et al. 1996). Ved lav pH vil metanogene bakterier i vomvæske fra storfe på en grovfôrbasert rasjon miste evnen til å bruke H₂, og mengden fritt hydrogen øker i gassfasen ved pH lavere enn 5,5 (Nes 2007).

Med en gjennomsnittlig rasjon for melkekyr vil råfiber stå for 60 % av det totale CH₄-utslippet, NFE 30 %, CP står for bare 10 % og eterekstrakt burde ha liten betydning fordi normalt vil en rasjon ha et lavt fettinnhold (Kirchgesner et al. 1995).

pH:

Van Kessel og Russell (1996) utførte et forsøk ved å inkubere vombakterier fra kyr i et medium som inneholdt eddiksyre (pH 7) og fant at produksjonsraten av CH₄ var pH-avhengig. Ved pH under 6,0 ble det ikke detektert en produksjon av CH₄ men ved å fjerne eddiksyre ble inhiberingen av metanogenesen totalt reversert, noe som gav inntrykk av at VFA forårsaket den pH-avhengige inhiberingen. VFA hadde ved lav pH tilsynelatende toksisk effekt på metanogenesen ettersom eliminering av eddiksyre førte til at CH₄ på nytt ble detektert (VanKessel & Russell 1996). Den optimale pH for produksjon av CH₄ er i følge Kumar et al. (2009) 7,0-7,2, men gassproduksjon kan foregå ved pH 6,6-7,6. Lavere pH enn 6,7 reduserer effektiviteten til de fibernedbrytende mikroorganismene og dermed også produksjonen av CH₄.

Egenskaper ved grovfôret:

Grovfôr høstet ved et tidlig utviklingstrinn har et lavt innhold av NDF, men innholdet øker ved økende utviklingstrinn, særlig etter skyting. Utslippet av CH₄ uttrykt per kg tørrstoff (TS) øker når kvaliteten reduseres fra "svært god" (lavt innhold av NDF) til "dårlig" (høyt NDF-innhold) (Garmo et al. 2009). Veldig tidlig høstet grovfôr gir, sammenlignet med sent høstet grovfôr, et redusert eddiksyre:propionsyre forhold og 25-30 % reduksjon i produksjon av CH₄ uttrykt i forhold til per enhet EKM, fordøyelig tørrstoff eller opptak av bruttoenergi (Nes et al. 2011). Generelt vil egenskaper ved fôret som gir nedsatt fordøyelighet eller forlenget oppholdstid i vom gi en økt produksjon av CH₄ per enhet fordøyd grovfôr (McAllister et al. 1996). I *in vitro* forsøk gjort med vomprøver fra sau på raigrasbeite ble det funnet at graden av lipolyse og hydrogenering i vom synker med økende utviklingsstadium på gras.

Produksjon av CH₄ påvirkes av mengde nitrogen gjødsling. Ifølge Bannink et al. (2010) vil sterk gjødsling kombinert med tidlig høstet gras gi lavest produksjon av CH₄ sammenlignet med svakt gjødslet gras høstet ved et sent utviklingsstadium. Dette skyldtes hovedsakelig forskjell i mengde og type fermenterbare karbohydrater og protein som er tilgjengelig for mikroorganismene i vom (Bannink et al. 2010).

Andre egenskaper ved grovfôret som påvirker produksjon av CH_4 per enhet fordøyd fôr er kjemisk behandling og fysisk prosessering (for eksempel kutting, maling og pelletering). Det blir normalt tapt mer energi i form av CH_4 når fôret er grovkuttet enn ved finmalt eller pelletert gras pga. en lengre oppholdstid i vom og dermed en redusert nedbrytingshastighet (McAllister et al. 1996).

Egenskaper ved kraftfôret:

Produksjon av CH_4 er avhengig av kraftfôrtype. Stivelse blir rask brutt ned i vom og gir høy andel propionsyre og lav pH som hemmer de cellulolytiske bakteriene og fører til redusert produksjon av H_2 (Weisbjerg et al. 2003). I sum vil derfor et høyt innhold av stivelse redusere produksjonen av H_2 , og dermed CH_4 . Kraftfôr med stivelse som er resistent mot nedbryting i vom vil redusere fermenteringen i vomma redusert produksjon av CH_4 som resultat.

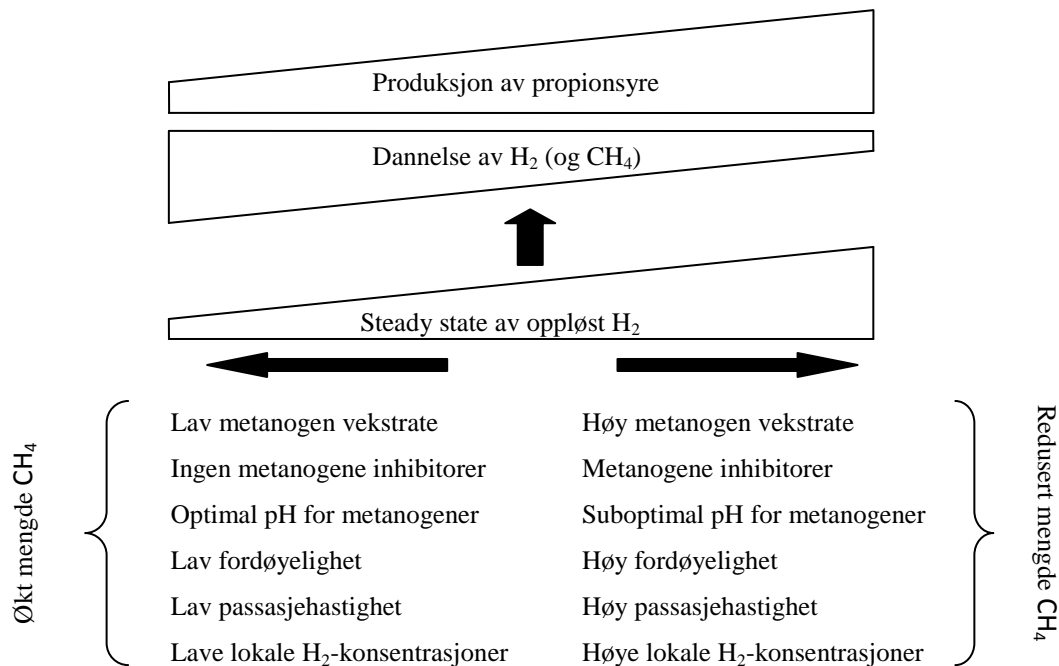
Effekt av fôrnivå:

En økning i fôrnivå gir gjennom økt passasjehastighet og lavere fordøyelighet av fiber større andel propionsyre og mindre produksjon av eddik- og smørsyre. (Aaes et al. 2003). Det blir mindre H_2 tilgjengelig og dermed en redusert produksjon av CH_4 (Jentsch et al. 2007; Kumar et al. 2009). Dette gjelder ved uendret rasjonssammensetning. Effekten på produksjon av CH_4 blir spesielt stor når fôrnivået økes ved å øke kraftfôrmengden, noe som er vanlig i praksis. En økning i passasjehastighet av fôr og mikroorganismer ut av vom ved å øke fôrnivået øker ofte effektiviteten i mikrobeveksten. Dermed vil forholdet mellom produksjon av mikrobielt stoff og kortkjedete fettsyrer øke, noe som bidrar til å redusere produksjonen av CH_4 (Aaes et al. 2003). Passasjehastigheten har i følge Okine et al. (1989) en effekt på CH_4 -produksjonen som er uavhengig av opptak og rasjonssammensetning. Produksjon av CH_4 og passasjehastighet er negativt korrelert, og med en doblett passasjehastighet vil produksjonen av CH_4 gå ned med 30 %, sannsynligvis pga. en endring mot større produksjon av propionsyre på bekostning av CH_4 -produksjon (Okine et al. 1989).

Effekten av økt tørrstoffopptak på produksjon av CH_4 er ikke entydig. Lasey et al. (1997) fant at utslipp av CH_4 ikke var sterkt korrelert med tørrstoffopptak per dag. Økt opptak kan gi lavere fordøyelse, noe som vil føre til en redusert produksjon av CH_4 (Aaes et al. 2003). I følge Makkar et al. (1995) vil økende fordøyelighet av en rasjon gi en økt mikrobiell aktivitet, økt produksjon av flyktige fettsyrer (VFA) og en økende gassproduksjon. Det motsatte er også funnet. Ifølge Johnson og Johnson (1995) vil et stort fôropptak av en rasjon med høy

fordøyelighet, for eksempel beitegras med høy fordøyelighet (Hart et al. 2009), gi lite tap av energi i form av CH_4 per enhet opptatt fôr.

Figur 2 summerer opp effekten som ulike endringer i fôringa har på produksjonen av CH_4 :



Figur 2. Faktorene listet opp øker (venstre) eller reduserer (høyre) gjennomsnittlig H_2 -konsentrasjon i vom, og dermed også mengden propionsyre og H_2 (og CH_4) som dannes (Janssen 2010).

2.3.3 Tilsetninger

Noen tilsetningsstoff kan redusere utslipp av CH_4 ved å redusere fermenteringsaktiviteten i vom eller ved å endre fermenteringsmønsteret, for eksempel gjennom en alternativ hydrogenmottaker (Beauchemin & McGinn 2006). Stoffe som kan redusere CH_4 finnes naturlig i blant annet gress, erter, kløver, luserne eller de kan tilsettes i fôr som organiske syrer.

2.3.3.1 Fumarat

Ved å tilsette fumarat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$) som er en organisk syre og forgjenger til propionsyre, kan man få en alternativ hydrogenmottaker i vomma (Beauchemin & McGinn 2006). I *in vitro* forsøk med mikroorganismer fra vom som fermenterte kraftfôr og pulver av høy, førte fumarat til en redusert produksjon av CH_4 (Asanuma et al. 1999). Størstedelen av fumarat ble

omdannet til propionsyre. I tillegg ble det observert en liten økning av flyktige fettsyrer. Fumarat ble brukt av bakteriene som en endelig elektronakseptor, som indikerer at disse konkurrerer med metanogener om H_2 (Asanuma et al. 1999).

Natrium-fumarat har vært brukt i *in vitro* forsøk med vomvæske fra sau. Det ble funnet en økning i gassproduksjon, uten at det var en økt akkumulering av H_2 , og man fant en økt produksjon av eddiksyre, propionsyre og en redusert produksjon av CH_4 (López et al. 1999). Fumarat har også i andre forsøk gitt økt andel propionsyre, økt total produksjon av VFA og et redusert eddiksyre:propionsyre forhold. På tross av at det var en økt produksjon av propionsyre ble det ikke observert en redusert produksjon av CH_4 . Dette kan være pga. at resultatene for VFA indikerer balansen mellom absorpsjon og produksjon i vom, ikke produksjon alene, og at tilskudd av fumarat øker fordøyelighet i vom og dermed produksjon av CH_4 (Beauchemin & McGinn 2006). McGinn et al. (2004) fikk ingen effekt av fumarat på produksjon av CH_4 i *in vivo* forsøk på okser. Det var i disse forsøkene heller ingen endring i fermenteringsmønsteret eller fermenteringsaktiviteten, som ble observert *in vitro* av Asanuma et al. (1999). Effekt av fumarat på produksjon av CH_4 vil påvirkes av mengden fumarat som tilsettes i rasjonen, ulik tilsetning vil gi ulike resultater (Asanuma et al. 1999).

2.3.3.2 Saponiner og tanniner

Saponiner er sekundære plantemetabolitter med antinutritiv effekt. De er veldig overflateaktive og kan raskt føre til skumdannelse i vomvæsken. Saponiner finnes i kløver, luserne, soyabønner, lupiner og det er høye konsentrasjoner i palmeliljeplanten (Nørgaard & Hvelplund 2003a).

I *in vitro* forsøk med et innhold av saponiner på opp til 1,2 mg per ml medium ble ikke produksjonen av VFA eller forholdet mellom de ulike VFA påvirket, i motsetning til ved tilsetning av tanniner (Makkar et al. 1995). Holtsausen et al. (2009) hadde et *in vitro* forsøk med to saponin-kilder, *Yucca schidigera* og *Quillaja saponaria*. Det ble funnet en synkende produksjon av CH_4 med en økende mengde saponin. Samtidig ble det observert en økning i produksjon av propionsyre. Forholdet mellom eddiksyre og propionsyre minket sammenlignet med kontrollen som ikke ble tilsatt saponin. I tillegg gikk fordøyeligheten av TS ned ved å tilsette 30 og 45 g/kg TS saponin i rasjonen. I *in vivo* forsøk ble det tilsatt mindre saponin i rasjonen (10 g/kg TS) for å unngå en reduksjon i TS-fordøyelighet (Holtshausen et al. 2009). Det ble ikke registrert noen effekt på fordøyelighet, vomfermentering eller produksjonen av CH_4 . Årsaken til varierende virkninger av saponintilskudd kan være bruk av ulike

saponinkilder. Det er få *in-vivo* forsøk som rapporterer en reduksjon i produksjon av CH₄ ved tilskudd av saponin i rasjonen (Holtshausen et al. 2009).

Tanniner er et antinutritivt næringsstoff som finnes i planter (for eksempel erter, rapsfrø og hestebønner) i varierende mengde. De reduserer mengden mikrober som fester seg til fôrpartikler i vom, noe som kan være en årsak til at det gir en redusert gassproduksjon (Makkar 2003). Effekten av tanniner på dyr varierer fra å være fordelaktige til toksiske og dødelige. Generelt vil tanniner i fôret føre til nedsatt smakelighet, fordøyelighet av NDF og protein, proteinutnyttelse, opptak og tilvekst (Makkar 2003; Nørgaard & Hvelplund 2003a). Ved et lavt til moderat innhold av kondenserte tanniner i en rasjon vil proteinet potensielt fordøyes i tyntarmen, men ved et for høyt innhold vil fordøyeligheten av protein i tyntarm reduseres (McDonald et al. 2002b).

Tanniner og saponiner i samme rasjon har en additiv reduserende effekt på gassproduksjon og fordøyelighet (Makkar et al. 1995). Tanniner gav redusert produksjon av eddiksyre og økt produksjon av propionsyre. VFA-produksjonen var sterkt korrelert med gassproduksjonen. I følge Makkar (2003) ser det ut til at kondenserte tanniner er i bundet form (for eksempel bundet til NDF) er inerte og har ingen effekt på mikrobiell fermentering så lenge de finnes i bundet form. På tross av dette, fører de til en økt effektivitet i mikrobiell proteinsyntese ved at mindre substrat brukes til produksjon av VFA, og dermed mindre produksjon av H₂ og CH₄ (Makkar 2003).

Effekten av tanniner på produksjon av CH₄ er ikke entydig. Beauchemin et al. (2007) fant ingen reduksjon i CH₄ ved å gi opptil 2 % av tørrstoffet som kondensert tannin i dagsrasjonen til Angus i vekst. Dette er i motsetning til resultatene Bhatta et al. (2009) fikk der tanniner reduserte antall metanogener og dermed produksjonen av CH₄.

2.3.3.3 Nitrat

Nitratsalter er potente hemmere av metanogenesen i vom. Nitrat (NO₃⁻) har en større affinitet for H₂ enn CO₂. I vom vil dermed nitritt og ammoniakk favoriseres over produksjon av CH₄, men bruk av nitrat innebærer en risiko for nitrittforgiftning ved at det blir omdannet til nitritt (NO₂⁻) istedenfor ammoniakk (Nolan et al. 2010). Nitritt vil absorberes over vomveggen og omdanner hemoglobin til methemoglobin. Methemoglobin har ikke evne til å transportere oksygen til kroppsvev og fører til tilstanden methemoglobinemia som kan redusere produksjon eller i verste fall være dødelig (van Zijderveld et al. 2010).

Det er observert en reduksjon i produksjon av CH_4 hos lam fôret en rasjon tilsatt nitrat og/eller sulfat. Effektene av nitrat og sulfat var uavhengige av hverandre og additive. I motsetning til forsøket utført av Nolan et al. (2010) ble det observert en endring i methaemoglobin i blodet hos dyrene når man supplerte rasjonen med nitrat. Sulfat alene eller i kombinasjon med nitrat gav ingen synlig endring fordi sulfat i anaerobe miljø kan fungere som en elektrondonor i reduksjonen av nitrat til ammoniakk og dermed hindre en opphopning av nitritt i vom. (van Zijderveld et al. 2010)

Nitrat har også andre egenskaper enn å hemme produksjon av CH_4 . Sluttproduktet for reduksjon av nitrat er ammoniakk, og for drøvtyggere med lav fordøyelighet i rasjonen vil nitrat være en god N-kilde for mikroorganismene. Reduksjon av nitrat vil teoretisk sett være mer energieffektivt enn metanogenesen og dermed føre til en økt mikrobiell vekst når metanogenesen hemmes av at det er nitrat tilstede. Nitrat tilsatt i fôr til sau som kaliumnitrat (KNO_3) har vist å redusere produksjon CH_4 . Dette ble gjort uten at methemoglobin i blodet ble påvirket. (Nolan et al. 2010)

2.4 Fett i rasjonen

2.4.1 Litt generelt om fett i fôr

Fett i rasjonen til storfe består i hovedsak av triglycerider og galaktolipider. De vanligste fettsyrene er palmitinsyre ($\text{C}_{16:0}$), oljesyre ($\text{C}_{18:1}$), linolsyre ($\text{C}_{18:2}$) og linolensyre ($\text{C}_{18:3}$) (Sjaastad et al. 2003). Innhold av fett og sammensetning av fett i ulike grovfôr- og kraftfôrtyper er vist i Tabell 1.

Tabell 1. Fettinnhold og sammensetning (g/100 g fettsyrer) av ulike grovfôr- og kraftfôrtyper (Harstad & Steinshamn 2010)

	Fett	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2n-6	18:3n-3
Grovfôr (g fettsyrer per kg TS)									
Timotei (tidlig skyting)	19,8	0,4	0,7	17,7	2,3	1,9	5,5	19,4	52,1
Timotei (tidlig blomstring)	16,8	0,4	1,0	18,9	2,1	2,0	6,5	22,1	47,0
Ettårig Raigras (cv. "Aubabe")	26,5	0,2	0,5	17,5	2,6	1,5	5,1	15,1	57,4
Hvitkløver (cv. "Merit")	28,1	0,2	0,4	16,9	2,7	2,9	5,1	16,5	55,3
Rødkløver (cv. "Walter")	21,6	0,3	0,5	18,8	2,6	3,8	8,0	22,9	43,0
Alfalfa (cv. "120")	17,2	0,5	0,8	24,7	2,5	4,5	5,1	21,8	40,2
Kraftfôr (g fett per kg TS)									
Havre	55,7	0,9	1,7	16,6	0,6	1,4	33,9	38,3	1,4
Bygg	22,4	-	0,4	22,3	-	1,4	13,4	53,9	5,1
Rapsfrø	420,8	-	-	4,0	0,2	1,6	58,1	21,2	11,8
Soyabønneolje		-	0,1	10,7	0,1	3,8	22,0	52,8	9,1
Solsikkeolje		0,5	0,2	6,8	0,1	4,7	18,6	68,2	0,5
Linfrøolje		-	-	4,8	-	4,7	19,9	15,9	52,7

Tilskudd av eller bruk av fôr med høyt innhold av fett i rasjonen til storfe gir økt energitetthet i fôret og økt melkeytelse, samtidig som fettsyreprofilen i melkefettet endres. Fettsyrer, spesielt de med 8-16 karboner (kokosnøttolje, raps, kernel olje etc.), kan også redusere produksjon av CH₄ (Kumar et al. 2009). Fettsyrer er en alternativ hydrogenmottaker og hemmer i tillegg protozoa som fører til nedsatt produksjon av CH₄ fordi metanogener er assosiert med protozoa. For mye fett i rasjonen kan derimot ha en negativ effekt ved at det gir et nedsatt fôropptak og fiberfordøyelighet som vil gi en nedsatt produktivitet (Kumar et al. 2009).

2.4.2 Hovedprinsippene ved omsetningen av fett i vomma

Triglycerider i gress og frø er lokalisert i membranene i plantecellene som mikroskopiske dråper i cytoplasma. Disse har en stor overflate og hydrolyseres raskt av mikrobene i vom. Under nedbryting av fett i vom blir triglycerider og galaktolipider brutt ned til glycerol og galaktose, respektivt, og frie fettsyrer. Deretter skjer en biohydrogenering som reduserer dobbeltbånd hos umettede fettsyrer. Glycerol og galaktose fermenteres til VFA (Sjaastad et al.

2003). Linol og linolen har cis-dobbeltbindinger og disse kan danne trans-bindinger under biohydrogeneringen (McDonald et al. 2002a). De frie fettsyrene transporteres ut av vom og blir brutt ned i tynntarmen.

Generelt har mikroorganismer i vom liten evne til å bryte ned fett. Hvis innholdet av fett i en fôrrasjon overstiger 100 g/kg vil mikrobeaktiviteten reduseres og det vil bli en nedgang i fordøyeligheten av strukturelle karbohydrater, som går ut over fôropptaket (McDonald et al. 2002a). Hvordan fett påvirker den mikrobielle aktiviteten i vom er avhengig av egenskapene til fett. Dette innebærer i hvor stor grad fettsyrene er umettet, hvilken type funksjonell gruppe de har, dannelse av karboksylatsalter, og fysisk assosiasjon av fettsyrer med partikkeloverflater og mikroorganismer. Mekanismene for hvordan fermentering påvirkes av fett er komplekse og involverer hvordan lipidene i cellemembranen til mikroorganismer fordeles, evnen fett har til å ødelegge cellemembranen og den cellulære funksjonen, binding av mikroorganismer til overflaten på fôrpartikler, samt hydrolytiske mikrobeenzymers uttrykk og aktivitet. Hastigheten for lipolyse og biohydrogenering av fett varierer med fôr kvalitet (utviklingsstadium og nitrogeninnhold), partikkeloverflate i vom og strukturelle endringer av lipidmolekylene som hindrer angrep av bakterielle isomeraser (Jenkins 1993).

2.4.3 Effekt av fett på sammensetning i melk og melkeytelse

Fett i rasjonen vil påvirke melkeytelse, innholdet av og sammensetningen av fett i melk. Mye fett i rasjonen fører til at produksjonen av VFA går mot mer propionsyre og mindre eddiksyre som er et viktig substrat i *de novo* syntese av fett, og mindre eddiksyre vil gi et lavere innhold av fett i melk. Effekten av fett kan reduseres ved å beskytte fett i form av å "coate" med formalinbehandlet protein, forsåpning med kalsium eller ved bruk av mettede fettkilder (Børsting et al. 2003b). Dermed har fett mindre hemmende effekt på mikrobene i vom og biohydrogeneringen av umettede fettsyrer reduseres. Ved å bruke oljefrø (for eksempel raps eller bomull) i fôret til storfe med over 75 % beskyttelse mot biohydrogenering vil forholdet mellom metta og umetta fett endres, og fettprosenten i melk øke (Ashes et al. 1997).

En økning av fettinnhold i en rasjon som i utgangspunktet er fettfattig fører til økt ytelse. Bli derimot innholdet av fett i rasjonen for høyt, kan det resultere i redusert appetitt, redusert ytelse og fettdepresjon. Dette er hovedsakelig på grunn av en negativ effekt på omsetningen av NDF i vom (Børsting et al. 2003a).

2.4.4 Effekt av fett på produksjon av CH₄

Fett i fôret til drøvtyggere vil i motsetning til karbohydrater og protein redusere produksjonen av CH₄. Fett kan virke inn på flere ulike måter, blant annet ved å redusere fôropptak, øke propionsyreproduksjon, redusere mengden protozoer, redusere aktiviteten til metanogener og ved å senke fordøyeligheten av fiber og protein. En høy andel av umetta fettsyrer kan redusere produksjon av CH₄ gjennom økt biohydrogenering i vom (Beauchemin & McGinn 2006; Beauchemin et al. 2009; Jentsch et al. 2007), men i følge Jenkins (1993) vil umettede fettsyrer bare ta i mot 1-2 % av metabolsk hydrogen, og bidra dermed lite som en hydrogenmottaker. Frie fettsyrer, spesielt langkjedete, umetta fettsyrer, er vist å hemme metanogenesen og å øke produksjonen av propionsyre både *in vitro* og *in vivo* (McAllister et al. 1996). Langkjedete fettsyrer, spesielt umetta fettsyrer, er direkte toksiske for metanogener, protozoa og gram-positive cellulolytiske bakterier. Når cellulolytiske bakterier hemmes, vil fordøyeligheten av fiber reduseres, og dermed vil produksjonen av eddik- og smørsyre svekkes (McAllister et al. 1996). Nedsatt fiberfordøyelighet skyldes også at fett danner et fettlag rundt fôrpartiklene og hemmer fordøyelsen av cellulose (Beauchemin & McGinn 2006; Jenkins 1993). Gram-negative bakterier som produserer propionsyre blir ikke vesentlig hemmet av fettsyrer, og nedgangen i CH₄ vil i hovedsak skyldes en endring i forholdet mellom de ulike VFA som går mot en høyere propionsyreproduksjon (McAllister et al. 1996). Tilskudd av fett kan redusere produksjon av CH₄, men kan også føre til et redusert fôropptak kombinert med en redusert fordøyelighet av TS og fiber. Disse faktorene, i tillegg til den direkte effekten av fett på CH₄-produksjon, vil også være med å bidra til et redusert utslipp av CH₄ (Beauchemin & McGinn 2006).

2.4.5 Effekt av ulike fettkilder på produksjon av CH₄

Fettsyrer har ulike egenskaper, som er bestemt av fettkjedelengde, om de er mettet, enumettet eller flerumettet.

Graden av fordøyelighet og mettetet, kan ha effekt på produksjon av CH₄ hos melkekyr (Beauchemin et al. 2009; Bhatta et al. 2009; Dohme et al. 2001). I et forsøk utført på okser som fikk en rasjon bestående av 10 % grovfôr og 90 % kraftfôr ble det funnet en reduksjon i produksjon av CH₄ ved tilskudd av hele soyabønner eller soyaolje. Hele soyabønner påvirket fôropptaket negativt.

Bomullsfrø har et høyt innhold av protein og energi, hele 22 % protein og 22 % fett (Grainger et al. 2010). Bomullsfrø har et høyt innhold av pamtinsyre, oljesyre og linolsyre, henholdsvis 27, 22 og 50 % av fettinnholdet (Arnold & Choudhury 1961). I følge Grainger et al. (2010) vil tilsetning av hele bomullsfrø i rasjonen redusere produksjonen av CH₄, ikke bare kortsiktig, men også over en lengre periode. En gjennomsnittlig reduksjon på 2,9 % CH₄ per 1 % tilsatt fett ble observert over en 12 ukers periode. Hele bomullsfrø hadde ingen signifikant effekt på VFA-produksjon, metanogener eller protozoa i vom, men det førte til 10 % nedgang i melkeytelse, redusert fett-, protein- og laktosekonsentrasjon og kroppsvekten gikk ned med 31 % (Grainger et al. 2010).

Laurinsyre (C12:0), myristinsyre (C14:0) og linolsyre (C18:2) reduserte produksjon av CH₄ og antall metanogener når de ble tilsatt som rene fettsyrer i en rasjon og testet ut med en vom-simulerings teknikk (RUSITEC) (Dohme et al. 2001). Umettede fettsyrer har en større effekt enn metta fettsyrer på fordøyelighet og produksjon av CH₄ i vom. En fri karboksylgruppe (COOH) er viktig for å hemme fermentering. Fettsyrederivater, fett-alkoholer, fettacyl amider og triglycerider har ingen frie karboksylgrupper og er mindre hemmende enn frie fettsyrer som har en fri karboksylgruppe (Jenkins 1993).

Eteriske oljer er flyktige oljer som stammer fra benzener og terpener i planter. De produserer karakteristiske aromaer og har varierende funksjoner, slik som å tiltrekke insekter eller som beskyttelse mot soppangrep (Lawrence 2005). Eteriske oljer kan hemme produksjon av CH₄ og eddiksyre ved å påvirke cellemembranen og hindre vekst hos gram-positive og gram-negative bakterier. De påvirker cellemembranen til bakterier som fører til en konformasjonsendring i membranstrukturen. Oljene er hydrofobe, og effekten bør i følge Calsimiglia et al. (2007) være størst på gram-positive bakterier på grunn av cellemembranen som kan virke direkte med de hydrofobe komponentene til de eteriske oljene. Ved bruk av eteriske oljer endres fordelingen av de ulike bakteriepopulasjonene i vom som en følge av at vekstraten endres, og fermenteringsmønsteret går mot mer propion- og smørsyre. Det er indikasjoner på at blant annet diallyl disulfid og allyl mercaptan (de aktive komponentene i hvitløksolje), cinnamaldehyd (den aktive delen av kanelolje), eugenol (den aktive komponenten i kløverknopper), capsaicin (den aktive komponenten i chili) og anithol (den aktive komponenten i anisolje) kan øke produksjonen av propionsyre og redusere produksjonen av eddiksyre og CH₄. Effekten for noen av oljene er avhengig av pH og rasjonssammensetning, capsaicin har for eksempel liten effekt i rasjoner med stor andel grovfôr. Bruk av krydder som inneholder eteriske oljer kan gi varierende resultat, da innholdet

av de aktive komponentene varierer, blant annet på grunn av variasjon mellom de kultiverte plantene, dyrkingsforhold og prosessering (Calsamiglia et al. 2007).

2.4.6 Bruk av raps

Raps hører til i den korsblomstrede familien (*Brassica napus* L.) og er den mest dyrkede av oljefrøplantene i Norge. Det dyrkes kun raps av den dobbeltlave sorten, som vil si at den har et lavt innhold av erucasyre og glukosinolater, som er komponenter med antinutritiv effekt. Frøene har et høyt innhold av protein og fett, og fettinnholdet varierer fra 45-50 % av tørrstoffet (Søegaard et al. 2003).

Det er vist at tilskudd av oljefrø kan redusere produksjonen av CH₄, men kan samtidig redusere rasjonsfordøyeligheten. En reduksjon i fordøyelighet kan være noe av årsaken til en redusert produksjon av CH₄ (Beauchemin et al. 2009). Rapsfrø har et høyt innhold av langkjedete umettede fettsyrer. I følge fôrtabellen (Fôrtabell: raps- og rybsfrø 2008) har rapsfrø et fettinnhold på 45 %, hvor oljesyre (C18:1), linolsyre (C18:2) og linolensyre (C18:3) utgjør størstedelen med henholdsvis 58,1, 21,2 og 11,8 % av de totale fettsyrene. Innholdet av stearinsyre (C18:0) og palmitinsyre (C16:0) utgjorde henholdsvis 1,6 og 4,0 % av de totale fettsyrene.

Wettstein et al. (2000) observerte at tilskudd av rapsfrø gav en lavere konsentrasjon av VFA og et lavere eddiksyre:propionsyre forhold sammenlignet med kontroll. Det ble i dette forsøket oppnådd en reduksjon i produksjon av CH₄ ved bruk av 7,7 % rapsfrø (77g per kg TS) i forhold til kontrollen, som ikke inneholdt rapsfrø (Wettstein et al. 2000). Beauchemin et al. (2009) sammenlignet solsikkefrø, linfrø og rapsfrø i ulike rasjoner og fant en varierende reduksjon av CH₄, avhengig av fettkilde, på henholdsvis 10, 16 og 18 % per kg tørrstoffopptak. Tilsetning av solsikkefrø og linfrø resulterte også i en nedsatt fordøyelighet. Etter korrigering for nedsatt fôropptak som en følge av nedsatt fordøyelighet var det bare rapsfrø som gav en reduksjon i CH₄ produksjonen.

2.5 Kort om metoder for å måle CH₄-produksjonen

De mest brukte metodene for å måle produksjon av CH₄ er respirasjonskammer og svovel heksafluoridmetoden (SF₆). Andre metoder som er prøvd ut er hetter, ansikstmasker (Johnson & Johnson 1995) og tunnelmetoden (Murray et al. 2007). Det er bare respirasjonskammer og SF₆-metoden som vil bli omtalt videre i denne oppgaven.

2.5.1 Respirasjonskammer

Et respirasjonskammer er et kammer hvor forsøksdyrene står, og hvor luftsirkulasjonen kan reguleres og registreres nøyaktig, samt at konsentrasjonene av gassene kan måles nøyaktig (Williams et al. 2007). Luft utenfra kammeret blir kontinuerlig sluppet inn samtidig som luft inne i kammeret slippes ut og konsentrasjonen av CH₄ i inngående og utgående luft blir målt kontinuerlig. Utslippet av CH₄ blir altså bestemt med utgangspunkt i den totale mengden luft som går gjennom systemet og differansen i konsentrasjon mellom utgående og inngående luft (Soliva & Hess 2007).

2.5.2 SF₆-metoden

SF₆ er en inert gass som brukes som markør (Johnson & Johnson 1995). Det antas at utslipp av SF₆ nøyaktig simulerer utslipp av CH₄, og dermed at fortynningsratene for SF₆ og CH₄ er identiske (Johnson et al. 2007). Prinsippene ved bruk av SF₆-metoden er at en beholder med SF₆-gass plasseres i vomma. Hvor mye gass som slippes ut per tidsenhet er kjent. Gassen fra vomma pustes ut og blir trukket inn i en kapillærslange som er plassert ved dyrets nese og deretter inn i en evakuert yoke. Det er vakuemet i beholderen, yoken, som trekker gassen fra nesepartiet inn i beholderen. Gassen blir samlet inn i beholderen med en konstant hastighet. Etter oppsamling en bestemt tid, som regel ett døgn, blir beholderen fylt med nitrogengass til trykket er omkring 1 atm og prøver fra hver beholder blir deretter tatt ut. Innholdet av CH₄ og SF₆ i beholderen blir så bestemt ved hjelp av gaskromatografi. Utslippsraten for CH₄ (QCH₄) kan kalkuleres (Formel 5) fra målte CH₄- og SF₆-konsentrasjoner i prøveuttakene og den kjente utslippsraten til SF₆ (QSF₆) (Johnson et al. 2007).

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times [CH_4]/[SF_6] \quad \text{Formel 5}$$

Bakgrunnsverdier av CH₄ og SF₆ skal subtraheres fra konsentrasjonen målt i yokene for prøveopptak. Bakgrunnsverdier for konsentrasjon av SF₆ er normalt veldig små sammenlignet med konsentrasjoner i yoken og kan normalt sees bort i fra. Bakgrunnsverdier av CH₄ ([CH₄]_b) burde korrigeres for ved å subtrahere bakgrunnsverdiene fra konsentrasjonene målt i yoken ([CH₄]_y), se Formel 6.

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times [(CH_4)_y - (CH_4)_b]/[SF_6] \quad \text{Formel 6}$$

2.5.3 Sammenligning av metodene

De to metodene, respirasjonskammer og SF₆-metoden, er sammenlignet i forsøk med melkekyr og det er funnet god overensstemmelse mellom de to metodene. SF₆-metoden gav en større variasjon mellom dyr og per enkeltdyr enn CH₄ målt ved respirasjonskammer. Variasjonen i produksjon av CH₄ var størst mellom dyr. På grunn av større dag til dag variasjon ved bruk av SF₆-metoden i forhold til ved respirasjonskammer vil det kreve et større antall gjentak for å få et like høyt presisjonsnivå som ved bruk av respirasjonskammer. Mange forsøksdyr er spesielt viktig ved bruk på beitende dyr der været vil utgjøre en ekstra variabel (Grainger et al. 2007).

I respirasjonskammer har dyrene begrenset bevegelighet, men det gir mulighet for nøyaktig måling av utslipp fra både vom- og tykktarmsfermentering (Johnson & Johnson 1995). Respirasjonskammer har vist seg å være den mest nøyaktige og pålitelige metoden for å måle CH₄. Fordelen med SF₆ er at dyrene kan gå fritt (Johnson & Johnson 1995), for eksempel på beite slik som i forsøket denne oppgaven er basert på.

I de fleste studier gir SF₆-metoden like verdier av CH₄ som ved bruk av respirasjonskammer. Det finnes også unntak, det har blitt observert verdier ved bruk av SF₆-teknikken som er mye høyere (39 %) enn ved bruk av respirasjonskammer (Grainger et al. 2010).

3.0 Egne undersøkelser

3.1 Material og metode

Forsøket ble utført med melkekyr ved Senter for husdyrforsk (SHF), UMB. Det ble gjennomført fra 22. juli til 19. september 2010 ved sommerfjøset til SHF. For å måle CH₄ ble SF₆-teknikken brukt.

3.1.1 Forsøksdyr

Åtte melkekyr pluss to reservekyr (5139 og 5141) av rasen norsk rødt fe (NRF) ble brukt i forsøket (Tabell 2). Kyrne var 24 til 63 dager ut i laktasjonen ved forsøksstart. Halvparten av dyrene hadde vomfistel. Ei ku (5136) var i 3. laktasjon, resten var i 2. laktasjon.

Tabell 2. Informasjon om forsøkskyrne

Ku	Kalvingsdato	Dager i laktasjon 21.juli	Laktasjons- nummer	Fistel
5085	07.06.2010	44	2	X
5136	10.06.2010	41	3	X
5137	29.06.2010	22	2	X
5138	29.06.2010	22	2	X
5139*	07.06.2010	44	2	
5140	28.05.2010	54	2	
5141*	19.05.2010	56	2	X
5142	25.06.2010	26	2	
5143	15.06.2010	31	2	
5144	16.06.2010	30	2	

*) Reservekyr

Kyrne ble delt i to mest mulig like grupper, hver gruppe på fire dyr hvorav to fistelkyr og to ikke-fistulerte kyr. De viktigste kriteriene som dyra ble gruppert etter var ytelse, laktasjonsstadium og levendevekt. Ku nummer 5138 ble etter Periode 2 erstattet med ku nummer 5141 (reserveku) på grunn av sykdom som ikke var relatert til forsøket.

Dyrene ble vegd to påfølgende dager i Periode 1 og Periode 2. Vegingen foregikk på to påfølgende dager for å ta hensyn til endringer i vomfylling. Datoer for veging og vekt uttrykt som kg er fremstilt i Tabell 3.

Tabell 3. Vektregistrering (kg) per ku

Ku	Periode 1		Periode 2		Forsøksslutt
	21.juli	22.juli	16.aug	17.aug	23.sept
Vekt (kg)					
5085	670,0	645,0	619,0	619,0	640,0
5136	559,0	530,0	522,0	522,0	536,0
5137	604,0	579,0	576,0	576,0	611,0
5141	477,0	434,0	444,0	450,0	480,0
5140	554,0	512,0	513,0	616,0	576,0
5142	577,0	551,0	547,0	548,0	571,0
5143	554,0	525,0	543,0	535,0	544,0
5144	553,0	545,0	539,0	545,0	558,0
Gjennomsnitt	560,4	536,2	539,4	536,2	564,5

Vektregistreringene for ku nummer 5138 er ikke fremstilt i Tabell 3 pga. at den ble byttet ut med ku nummer 5141 etter Periode 2.

3.1.2 Forsøksopplegg/behandling

Forsøket hadde et "cross over design" og bestod av to perioder, hver på 21 dager. Dyrene hadde en 11 dagers tilvenningsperiode og 10 dager oppsamling (Tabell 4). Ved oppstart av Periode 2 og skifte av forsøksfôr ble det foretatt et skifte av vominnhold fra kyrne som var ferdig med forsøksfôret til kyrne som startet på forsøksfôret og vice versa. Forsøket startet 22.juli og ble avsluttet 1.september. For å undersøke om en eventuell effekt av fett var varig over tid ble Periode 2 forlenget til 19.september. Gjennom hele forsøksperioden gikk kyrne på beite, og forsøksfaktoren var kraftfôret (se nedenfor).

Tabell 4. Forsøksperioder

Periode 1		Periode 2		Forlengelse Periode 3 og 4
Tilpasning	Prøvesamling	Tilpasning	Prøvesamling	
22.07-01.08	02.08-11.08	12.08-22.08	23.08-01.09	02.09- 19.09

3.1.3 Fôr og fôring

Beitet:

Kyrne gikk på beite både natt og dag gjennom hele forsøket. To beiter ble brukt, Store Loppehullet og Hala Øst på henholdsvis 17 og 30 daa. Begge beitene var i hovedsak graseng. Størrelsen på tildelt beite per dag ble tilpasset mengden gress slik at det tilsvarte *ad libitum* tilgang. Hvert av beitene ble delt inn i mindre deler og ble rotasjonsbeitet. Før forsøksstart ble beitene pusset med en beregnet tidsforskyvning for å oppnå mest mulig likt utviklingsstadium av graset ved oppstart for hvert beite. De oppdelte beitene ble pusset etter hver beiting.

Kraftfôr:

Det ble brukt to typer kraftfôr i forsøket, et kontroll- og et forsøkskraftfôr. Begge typene ble produsert ved Felleskjøpet Agri, Kambo. Komposisjon, kjemisk sammensetning og beregnet energi- og proteinverdi er vist i Tabell 5. Proteinverdien uttrykt som AAT skulle være mest mulig likt i begge kraftfôrtypene og innholdet av NDF og stivelse også være så like som mulig. Det som spesielt skiller i komposisjonen mellom de to blandingene var innhold av fett og fettkilde. Kriteriene for forsøkskraftfôret var at fettinnholdet skulle være minimum 2 % - enheter høyere enn kontrollkraftfôret. Det vegetabiliske fett i kontrollkraftfôret var Nutri Feed FAP (fettsyrer fra vegetabiliske oljer) produsert av Agro Tech Nutrition. I forsøksfôret ble det brukt rapsfrø som ble blandet inn som hele frø i kraftfôret.

Tabell 5. Komposisjon, kjemisk sammensetning og beregnet energi- og proteinverdi i kontroll- og forsøkskraftfôr

Ingredienser, %	Kontrollkraftfôr	Forsøkskraftfôr
Bygg, ekspander- behandlet	46,1	44,7
Havre, ekspander- behandlet	13,0	10,0
Rapsfrø	-	10,0
Rapsfrø ekspeller	6,0	0
SoyPass	11,0	18,5
Soybønnemel, ekstrahert	3,2	-
Mais grits	5,0	5,0
Melasse	6,5	6,5
Betepulp	5,1	1,6
Vegetabilsk fett	0,9	0
Tilsatt salt, vitaminer og mineraler	3,6	3,9
Kjemisk sammensetning, %		
Aske	6,9	7,2
Råprotein	15,5	16,7
Fett	3,2	5,4
NDF	18,0	18,0
Starch	31,8	30,0
Næringsverdi:		
Fôrenheter melk ¹ (FEm/kg)	0,97	1,0
AAT ² /FEm	121	121
PBV ³ /FEm	-20	-12

¹ 1 FEm = 6.9 MJ netto energi melk = 1 kg bygg

² AAT = Aminsyre absorbert i tarm

³ PBV = Proteinbalanse i vom

Gruppe 1 fikk kontrollkraftfôr (behandling 1) og gruppe 2 fikk forsøkskraftfôr (behandling 2). Kraftfôrmengden ble individuelt tilpasset etter ytelse og tildelt under melking morgen og kveld, omtrent henholdsvis kl. 08.00 og 17.00. Tildeling av kraftfôr, fôrrester og ytelse er vist i Tabell 6.

Tabell 6. Gjennomsnittlig tildeling av kraftfôr (kg fôr og kg TS/dag) per ku og periode, eventuelle fôrrester (kg TS/dag) og ytelse (kg EKM/dag)

Ku	Periode	Behandling	Tildelt kg	Tildelt kg TS/dag	Fôrrester kg TS/dag	Ytelse kg EKM/dag
5085	1	2	9	8,1	0,07	34,9
	2	1	9	8,2	0,0	27,3
	3	1	9	8,2	0,0	24,5
	4	1	9	8,2	0,0	26,2
5136	1	1	9	8,2	0,0	34,0
	2	2	9	8,1	0,0	26,4
	3	2	9	8,1	0,0	25,3
	4	2	9	8,1	0,0	25,5
5137	1	2	9	8,1	0,07	34,0
	2	1	9	8,2	0,0	26,2
	3	1	9	8,2	0,0	24,7
	4	1	9	8,2	0,0	23,5
(5138)	1	*	*	*	*	*
	2	*	*	*	*	*
5141	3	2	9	8,1	0,53	24,7
	4	2	9	8,1	0,12	23,5
5140	1	1	9	8,2	0,0	24,7
	2	2	9	8,1	0,0	22,4
	3	2	9	8,1	0,0	21,1
	4	2	9	8,1	0,0	21,9
5142	1	2	9	8,1	0,0	31,1
	2	1	9	8,2	0,0	25,3
	3	1	9	8,2	0,0	27,9
	4	1	9	8,2	0,07	23,5
5143	1	2	9	8,1	0,0	25,8
	2	1	9	8,2	0,0	29,4
	3	1	9	8,2	0,0	28,7
	4	1	9	8,2	0,0	25,3
5144	1	1	9	8,2	0,15	30,1
	2	2	9	8,1	0,0	27,5
	3	2	9	8,1	0,17	24,7
	4	2	9	8,1	0,0	30,1

*) Verdiene for ku nr. 5138 ble fjernet fra datasettet.

3.1.4 Målinger, prøvetaking og analyser

Under forsøket var det prøvetaking av melk, blad- og nettmage, vomsaft og gjødsel, og det ble målt pH. For å bestemme grovfôropptak ble ufordøyelig NDF (iNDF) benyttet som intern markør. Ytterbiumacetat (Yb-acetat) og krom-EDTA (Cr-EDTA) ble benyttet for å bestemme mengde gjødsel og grovfôropptak. Uttak av bladmage og gjødsel ble gjort for å se på partiell og total fordøyelighet. Resultatene for opptak av beite og fordøyelighet av fôret foreligger

ikke og metodene som ligger til grunn for dette vil ikke bli omtalt. Oppgaven tar bare for seg produksjon av CH₄.

Oversikt over de ulike målingene og prøvetaking knyttet til forsøksdyrene er vist Tabell 7.

Tabell 7. Oversikt over målinger og prøvetaking

Dag	Markør	CH ₄ -måling	Bladmage-prøvetaking	pH måling	”Grab sampling” gjødsel	Melke-ytelse	Melke-prøver
1	XX ¹					X	
2	XX					X	
3	XX					X	
4	XX					X	
5	XX					X	
6	XX					X	
7	XX					X	
8	XX					X	
9	XX					X	
10	XX					X	
11	XX					X	
12	XX	X				X	
13	XX	X				X	
14	XX	X				X	X
15	XXX	X				X	X
16	XXX	X				X	X
17	XXX	X		X		X	
18	XXX			X		X	
19	XXX		X		X	X	
20	XXX		X		X	X	
21	XXX		X		X		

¹ Dosene korresponderer med en dagsmengde klokken 08.00

XX: ½ daglig mengde i sammenheng med melking klokken 08.00 og 17.00

XXX: 1/3 daglig mengde i sammenheng med melking klokken 08.00, 17.00 og ved kveldsrunden klokken 22.00

Beite og kraftfôr:

Representative prøver av beitet ble håndplukket og lagt i plastposer etter skjemaet vist i Tabell 8. I hver periode ble de to første og de to siste prøvene slått sammen og deretter delt i to paralleller. En prøve ble tørket ved 55 °C i 48 timer og en prøve ble lagret i fryser. Prosedyre for prøvetaking av grovfôr og kraftfôr er vist i Tabell 8.

Tabell 8. Prosedyrer for prøvetaking av beite og kraftfôr

	Periode 1	Periode 2	Forlenget periode
Tilpasningsperiode	22/7-1/8	12/8-22/8	
Prøvetaking	2/8-11/8	23/8-1/9	2/9 – 17/9
Prøvetaking av beite for analyse	30/7, 3/8, 7/8 og 11/8	20/8, 24/8, 28/8 og 1/9	8/9 og 15/9
Prøvetaking av beite for botanisk sammensetning	30/7	20/8	
Daglig prøvetaking av kraftfôr	22/7-1/8 og 2/8-11/8	12/8-22/8 og 23/8-1/9	

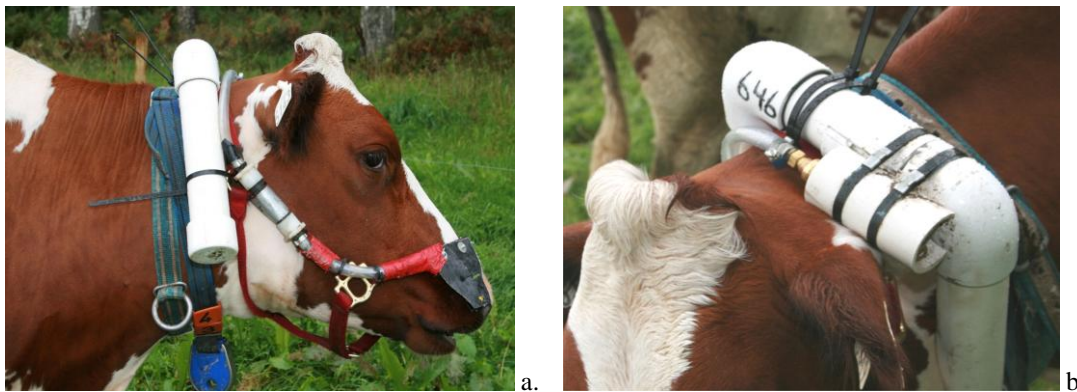
Botanisk sammensetning av beitet ble bestemt som beskrevet av t'Mannetje og Haydock ((1963) etter Everson & Clarke (1987)). Metoden går ut på å plassere en 0,4x0,4 m kvadrat tilfeldig på beitet og registrere alle arter inne i kvadratet og de tre vanligste artene rangeres med bakgrunn i tørrstoff innhold. De tre artene blir rangert (1., 2. og 3.plass) etter hvor stort innholdet er i kvadratene det tas prøve fra. Deretter blir verdiene vektet ved å multiplisere dem mot tre tidligere bestemte konstanter, og summen av verdiene for hver art gir prosentvis fordeling av artene på beitet (Everson & Clarke 1987). Dette ble utført på hele området som skulle beites tre dager før forsøksperioden begynte. Prøver av beitet ble tørket ved 103 °C, malt ved 1mm sold og deretter analysert for tørrstoff (TS), aske, råprotein (CP), fett og fettsyresammensetning, NDF og iNDF.

Representative prøver av begge kraftfôrtypene ble tatt i sammenheng med oppveging av den daglige rasjonen etter skjemaet vist i Tabell 8 og oppbevart i lufttette glass frem til preparering i form av maling med 1,0 mm sold. Prøvene ble analysert for TS, aske, CP, fett og fettsyresammensetning, stivelse, NDF og iNDF.

3.1.5 Måling av CH₄

Måling av CH₄ ble utført dag 12 til dag 17 i hver periode (Tabell 7). I den forlengede perioden ble CH₄ målt 7.-11. og 15.-19. september. For å måle CH₄-utslipp ble SF₆-metoden brukt. Permeable "rør" som inneholdt SF₆ ble plassert i nettmagen hos alle kyrne 2,5 uker før prøvetaking for at markørgassen skulle oppnå "steady state" innen prøvetakingen startet. Rørene ble vegd før og etter forsøket for å finne ut hvor mye SF₆ som var frigitt.

Utstyret for måling av CH_4 (3) ble klargjort i Stoffskiftefjøsset samme morgen som det skulle settes på dyrene eller skiftes ut. For å samle opp CH_4 ble et rørformet apparat (yoke, se Figur 3) plassert på nakken til kyrne og festet til en grime. Det ble pumpet luft ut av yoken ved hjelp av en vakuumpumpe til trykket i yoken målte 13-14 "pounds per square inch" (psi). Trykket ble sjekket med et manometer, både i enheten psi og mm kvikksølv (Hg), og registrert på eget skjema, se Vedlegg 1. Fra yoken gikk det en slange til dyrenes neseområde. Luft som dyrene gulpa opp/pustet ut ble sugd kontinuerlig inn i yoken pga. vakuomet. Yoken ble erstattet med en ny hver 24. time rundt klokken 09.00 i sammenheng med melking. Grimene ble i denne sammenheng kontrollert for skader og byttet ut hvis de var blitt ødelagt i løpet av foregående døgnet. Det ble ikke tatt bakgrunnsprøver for analyse av CH_4 og SF_6 .



Figur 3 a og b. Ferdig påmontert utstyr for måling av CH_4 (Foto: Janne Brodin).

Etter innsamling ble trykket i de nylig brukte yokene målt og registrert (Vedlegg 1), både i psi og Hg. Etter et døgns oppsamling av gass burde trykket i yoken være 4-5 psi. Ved høyere trykk tydet det på en tett slange, lavere trykk indikerte en lekkasje. Deretter ble det tilsatt nitrogen (N₂), som hadde et trykk på 1 bar, i yoken som tilsvarte et trykk på omtrent 103 kPa. Etter tilførsel av N₂ ble yokene satt til å "hvile" i 45 min.

Ved prøvetaking ble det benyttet en 30 ml sprøyte med tynn sprøytespiss. Det ble først tatt ut 20 ml fra hver yoke som ikke ble brukt. Deretter ble 5 prøver à 20 ml fra hver yoke overført til evakuerte prøveglass som var merket med prøvenummer. Etter at prøvetakingen ble yokene tømt og rensset tre ganger med N₂ som hadde et trykk på 2 bar. Totalt ble det tatt 400 prøver som alle ble analysert for SF_6 og CH_4 på laboratoriet til Lethbridge Research Centre, Canada. Konsentrasjonen av SF_6 og CH_4 ble analysert ved gass kromatografi.

3.1.6 Beregninger

Produksjon av CH₄ ble beregnet fra konsentrasjonen av CH₄ i prøven og den totale mengden gass som ble produsert. Verdier som varierte sterkt fra de resterende dagene for prøvetaking ved et dyr i en periode, og som i tillegg stemte overens med registreringer av lekkasje eller tett yoke ble fjernet fra datasettet.

Utslippsraten for CH₄ (QCH₄) kan kalkuleres (Formel 5) fra målte CH₄- og SF₆-konsentrasjoner i prøveuttakene og den kjente utslippsraten til SF₆ (QSF₆) (Johnson et al. 2007).

Beregning av energikorrigert melk (EKM) ble gjort etter følgende formel (Ekern 1991):

$$\text{EKM} = \text{kg melk} (0,01 + 0,122 \times \text{fett \%} + 0,077 \times \text{protein \%} + 0,053 \times \text{laktose \%}) \quad \text{Formel 7}$$

3.1.7 Analyser

Analyse for tørrstoff, aske, råprotein, stivelse, fett, fettsyresammensetning og NDF ble utført ved LabTek, IHA. Analyse for CH₄ og SF₆ ble utført ved Lethbridge Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada.

Tørrstoff og aske ble bestemt etter metoden av Malkomesius & Nehring (1951). For å bestemme innholdet av tørrstoff ble prøvene tørket ved 105 °C til konstant vekt, enten 4 timer eller natten over. Aske ble bestemt ved å tørke prøvene ved 550 °C i 4 timer eller natten over.

Innholdet av protein ble bestemt ved Kjeldahl-N analyse etter AOAC metode nr.: 984.13 (1990). Prøven ble tilsatt svovelsyre (H₂SO₄) ved 420 °C sammen med kaliumsulfat (K₂SO₄) og en katalysator, kobbersulfat (CuSO₄). Deretter ble prøven destillert med natriumhydroksid (NaOH) og titrert med hydrogenklorid (HCl) på instrumentet Kjeltex 1035/1038.

Innholdet av stivelse i kraftfôr ble bestemt i henhold til metode beskrevet i AACC (2000) ved å koke prøven med varmestabil α-amylase for å bryte den tredimensjonale strukturen til stivelse ned til vannløselige og kortere kjeder. Deretter ble amyloglukosidase-enzym tilsatt for å omdanne de kortere kjedene til glukose. Glukosekonsentrasjonen ble til slutt bestemt som en fargereaksjon ved bruk av spektrofotometeret Cobra Mira S.

Innholdet av råfett ble bestemt etter Accelerated Solvent Extraction metoden (Technical Note 68). Ved ekstraksjon av råfett fra gras brukes 100 % petroleter. Prøven ekstraheres med løsningsmiddel og settes deretter i vannbad under nitrogen for å blåse av løsningsmiddelet og

tørkes ved 100 °C i vakuumovn. Ved ekstraksjon av råfett fra kraftfôr brukes en kombinasjon av petroleter (80 %) og aceton (20 %) som løsningsmiddel og prøven tørkes ved 125 °C.

Fettsyresammensetning ble bestemt ved direkte metode for ekstraksjon og metylering av fettsyrer etter O'Fallon et al. (2007). Prøvene ble hydrolysert med kaliumhydroksid (KOH) og metanol (MeOH). De frie fettsyrene ble metylert med svovelsyrekatalyse (H₂SO₄) i vannbad (55 °C) og avkjølt. Deretter ble prøvene tilsatt heksan og sentrifugert. Heksanlaget ble til slutt overført til gasskromatograf for analyse av fettsyresammensetning.

Innholdet av NDF ble bestemt ved å fordøye prøvene med en nøytraldetergent løsning tilsatt natrium sulfitt og varmemestabil α -amylase, der NDF er den delen av prøven som ikke løser seg i såpeløsningen. Deretter ble prøvene filtrert og vaskes. Filtratet ble så tørket og vegd (Mertens et al. 2002).

Konsentrasjonen av CH₄ og SF₆ ble bestemt ved bruk av gasskromatografi (Varian 3600) (Chaves et al. 2006).

3.1.8 Statistiske beregninger og statistisk oppgjør

Resultatene på produksjon av CH₄ ble analysert i statistikkprogrammet SAS med metoden Proc. Mixed. Et resultat ble ansett som signifikant ved p-verdi < 0,05. Ved p-verdi = 0,05-0,10 er resultatet beskrevet som at det viser en tendens. Resultatene er oppgitt som et tilpasset gjennomsnitt (least squares mean = LSM) og standardfeilen til gjennomsnittet (standard error mean = SEM).

Modell 1:

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + e_{ijkl}$$

Der;

Y_{ijkl} = Produksjon av CH₄ eller EKM ved ku nr i , periode j , behandling k og dag l .

μ = gjennomsnittlig produksjon av CH₄ eller EKM

a_i = tilfeldig effekt av ku nummer

β_j = fast effekt av periode

γ_k = fast effekt av behandling

δ_l = fast effekt av dag

e_{ijkl} = tilfeldig feil

$i = ku = 1, 2, 3, 4$

$j = \text{periode} = 1, 2, 3, 4$

$k = \text{kraftfôrtype} = 1, 2$

$l = \text{dag} = 1, 2, 3, 4, 5$

Modell 2:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + e_{ijkl}$$

Modellen er identisk med Modell 1, men fast effekt av behandling (γ_k) er erstattet med fast effekt av fistel.

Y_{ijkl} = Produksjon av CH₄ eller EKM ved ku nr i , periode j , fistel k og dag l .

γ_k = fast effekt av fistel

$k = \text{fistel} = 1, 2$

Modell 3:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + \zeta_m + e_{ijklm}$$

Modellen er identisk med Modell 1, men har i tillegg til fast effekt av behandling også fast effekt av fistel.

Y_{ijklm} = Produksjon av CH₄ eller EKM ved ku nr i , periode j , behandling k , dag l og fistel m .

γ_k = fast effekt av behandling

ζ_m = fast effekt av fistel

$k = \text{behandling} = 1, 2$

$m = \text{fistel} = 1, 2$

3.2 Resultater

3.2.1 Kjemisk sammensetning av kraftfôr og beite

Kjemisk innhold i kontrollkraftfôret og forsøkskraftfôret er vist i Tabell 9.

Tabell 9. Gjennomsnittlig kjemisk innhold av kontrollkraftfôret og forsøkskraftfôret

Kjemisk sammensetning	Kontroll	Forsøkskraftfôr	SEM	P-verdi
Tørrstoff g/kg	906,5	902,7	1,88	0,349
Tørrstoffbasis g/kg TS				
Aske	75,9	80,4	1,91	0,398
NDF	210,7	202,6	3,60	0,295
CP	177,9	185,0	1,77	0,030
Fett	41,6	57,7	4,09	0,035
Stivelse	317,8	322,2	5,03	0,690

Av Tabell 9 går det frem at forsøkskraftfôret skilte seg fra kontrollkraftfôret med signifikant høyere innhold av råprotein og fett. Forskjellen i innhold av protein var på 0,7 % -enheter og for fett 1,6 % -enheter. Forskjellen i innhold av fett var noe mindre enn de 2 % -enhetene som var planlagt. Det var variasjon i analysesvarene for fett i kraftfôret. En av prøvene fra hvert kraftfôr skilte seg ut, noe som kan skyldes analysefeil.

Innhold av sum fettsyrer og av noen enkle fettsyrer i kontrollfôret og forsøkskraftfôret er vist i Tabell 10.

Tabell 10. Innhold av sum fettsyrer og av noen enkle fettsyrer i kontrollfôret og forsøkskraftfôret

	Sum syrer % av fettinnhold	C 16:0	C 18:0	C18:1n9c	C18:2n6c	C18:3n3
		% av påviste fettsyrer				
Kontrollkraftfôr	97,0	18,4	2,4	34,1	31,8	6,1
Forsøkskraftfôr	96,9	13,0	2,0	40,8	28,9	7,4

Det var særlig innholdet av oljesyre (C18:1) og palmitinsyre (C16:0) som skilte forsøkskraftfôret fra kontrollkraftfôret, som vist i Tabell 10. Forsøkskraftfôret hadde sammenlignet med kontrollkraftfôret, ca 16 % høyere innhold av oljesyre og 30 % lavere innhold av palmitinsyre.

Kjemisk innhold av beitegras gruppert etter periode er vist i Tabell 11.

Tabell 11. Kjemisk innhold av beitegras gruppert etter periode

Periode	Dato for prøvetaking	n	TS g/kg (frysetørket)	Aske g/kg TS	NDF g/kg TS	CP g/kg TS	Fett g/kg TS	Rest g/kg TS
1*	30.07 & 03.08 07.08 & 11.08	2	185,1	91,3	425,2	199,4	40,4	185,7
2*	20.08 & 24.08 28.08 & 01.09	2	128,4	89,1	503,5	207,9	37,2	162,3
3	08.09	1	169,5	79,1	462,0	148,4	34,0	276,5
4	15.09	1	129,6	92,8	478,9	190,7	41,2	196,4

*) En samleprøve for datoene på samme rad ble sendt inn til analyse.

Som vist i Tabell 11 var det ingen systematisk endring i kjemisk sammensetning av beitet i løpet av forsøksperioden. Innholdet av fett var lavest (34,0 g/kg TS) i begynnelsen av september og høyest (ca 40 g/kg TS) i begynnelsen og slutten av forsøket.

Innhold av sum fettsyrer og av noen enkle fettsyrer i beitegraset for hver periode er vist i Tabell 12.

Tabell 12. Innhold av sum fettsyrer og av noen enkle fettsyrer i beitegras

Periode	Sum syrer % av fettinnhold	% av sum syrer				
		C 16:0	C 18:0	C18:1n9c	C18:2n6c	C18:3n3
1	92,9	12,8	1,3	2,5	14,4	51,2
2	93,2	12,6	1,1	2,6	14,3	51,4
3	93,1	12,1	1,4	2,3	16,3	51,3
4	91,8	12,1	1,3	2,4	13,9	51,1

Innholdet av sum syrer og av de enkle fettsyrene vist i Tabell 12, var relativt likt gjennom hele forsøket.

Det ble tatt ut prøver for bestemmelse av botanisk sammensetning, men resultatene er ikke klare. Beitet bestod av flere forskjellige grasarter og noe ugras, blant annet høymole.

3.2.2 Opptak av kraftfôr

På grunn av at resultatene for opptak av grovfôr ikke foreligger, blir bare opptaket av kraftfôr tatt med i denne oppgaven.

Som vist i Tabell 6, ble alle kyrne innen forsøksledd tildelt likt antall kg kraftfôr. Forsøkskraftfôret hadde litt høyere energiverdi enn kontrollkraftfôret. Dette ble kompensert

for ved å gi litt mindre (8,1 vs 8,2) uttrykt i kg TS. Det var generelt lite rester av kraftfôr. Unntaket var ku nr 5141 som hadde 0,53 kg kraftfôrtørrstoff/dag i periode 3 og 0,12 kg kraftfôrtørrstoff/dag i periode 4. Kua ble tildelt forsøkskraftfôr i både periode 3 og 4.

3.2.3 Ytelse

Daglig ytelse uttrykt som g/kg EKM gruppert etter ulike perioder er vist i Tabell 13. Kyrne ble gruppert etter fistel/ikke fistel for å undersøke om det var signifikant forskjell i ytelse mellom gruppene.

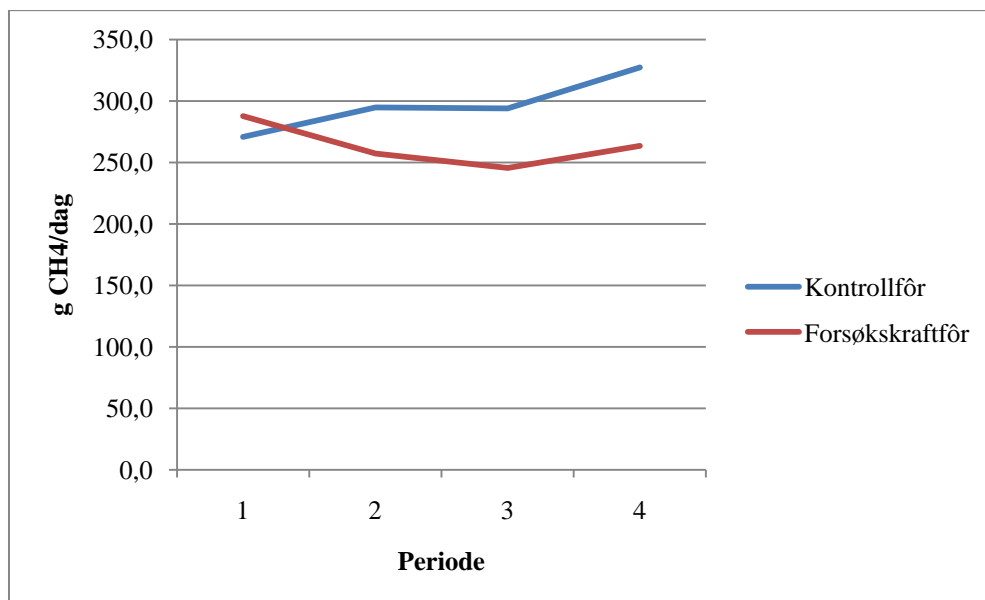
Tabell 13. Virkning av forsøkskraftfôr og fistel på gjennomsnittlig (Least square means) ytelse (kg EKM/dag) for ulike perioder samt standardfeil (SEM) og p-verdi for effekt av behandling

	Kontroll	Forsøkskraftfôr	SEM	p-verdi
Periode: alle				
Med fistel	27,7	28,3	0,4	0,215
Uten fistel	26,5	25,9	1,3	0,352
Alle	26,7	27,2	0,7	0,324
Periode: 1 og 2				
Med fistel	30,4	30,5	0,4	0,964
Uten fistel	30,5	26,7	1,2	0,320
Alle	28,6	28,9	0,8	0,676
Periode: 1 og 3				
Med fistel	29,0	30,1	0,3	0,034
Uten fistel	30,1	25,7	1,4	0,001
Alle	28,1	27,9	0,8	0,768
Periode: 1 og 4				
Med fistel	29,5	30,2	0,6	0,279
Uten fistel	25,9	27,2	1,5	0,058
Alle	27,2	28,7	0,8	0,020

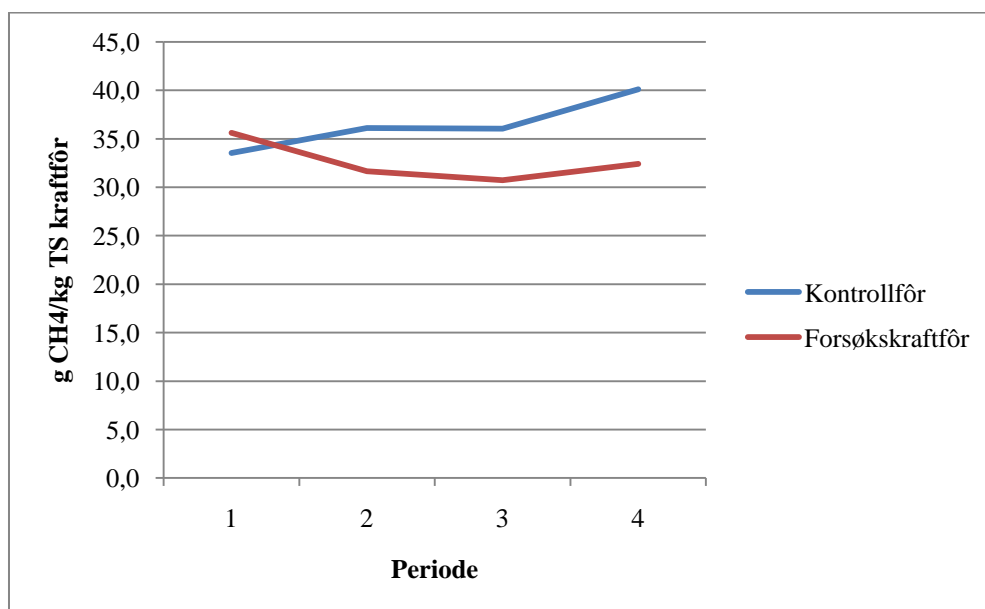
Som vist i Tabell 13, hadde behandling relativt liten effekt på ytelse. For alle forsøksdyra samlet, var det signifikant forskjell bare for Periode 1 og 4, med en ytelse på 27,2 og 28,7 kg EKM på henholdsvis kontroll- og forsøkskraftfôret. Denne forskjellen var klart størst for kyrne uten fistel. Det var noen interessante nominelle forskjeller i ytelse mellom dyra med og uten fistel. For alle periodene hadde kyrne med fistel en gjennomsnittlig større ytelse enn kyrne uten fistel (henholdsvis 27,7 kg EKM/dag og 26,5 kg EKM/dag). Med unntak av Periode 1 og 4 der denne forskjellen var nominelt betydelig større på forsøkskraftfôret enn på kontrollkraftfôret.

3.2.4 Produksjon av CH₄

Gjennomsnittlig utvikling av CH₄-produksjon per behandling uttrykt som g/dag og g/kg TS kraftfôr fra Periode 1 til Periode 4 er vist i henholdsvis Figur 4 og Figur 5. Bytte av kraftfôrtype skjedde fra Periode 1 til Periode 2.



Figur 4. Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag per periode.

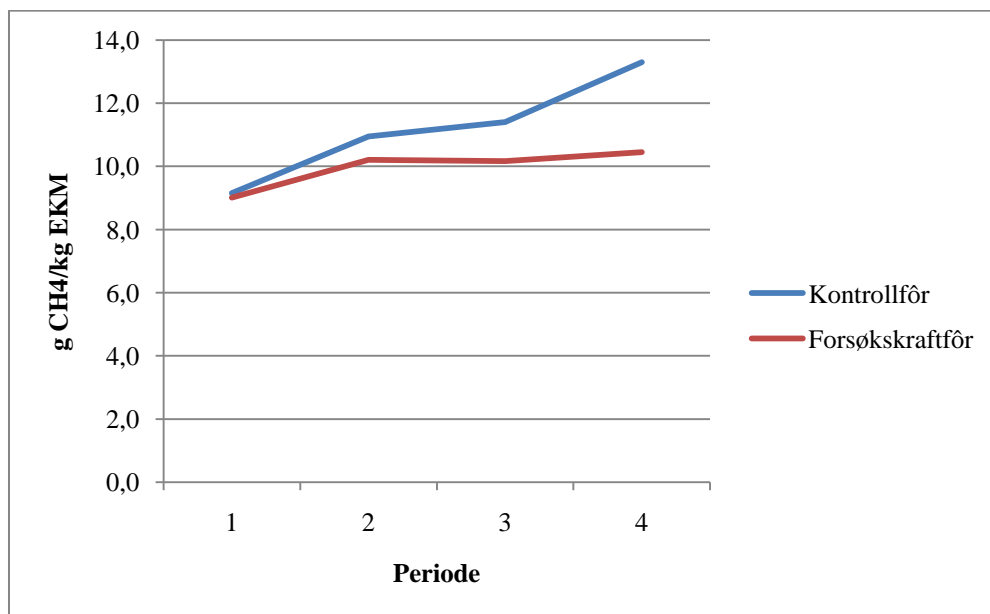


Figur 5. Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt g/kg TS kraftfôr per periode.

Som vist i Figur 4 og 5, sank produksjonen av CH₄ (g/dag og g/kg TS kraftfôr) fra Periode 1 til Periode 3 for kyr på forsøkskraftfôr, for så å øke noe fra Periode 3 til Periode 4. Hos kyr på kontrollkraftfôr økte produksjonen av CH₄ fra 273,9 g/dag til 327,2 g/dag, eller fra 33,5 til

40,1 uttrykt som g/kg TS kraftfôr, fra Periode 1 til Periode 4, men med liten forskjell mellom Periode 2 og 3. For kyr på forsøkskraftfôret sank produksjonen av CH₄ i samme tidsperiode fra 296,9 til 263,4 g/dag eller fra 35,6 til 32,4 uttrykt som g/kg TS kraftfôr. Differansen mellom behandlingene i produksjon av CH₄ hadde en tendens til å øke utover i forsøket.

Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt per kg EKM/dag per periode for begge behandlingene er vist i Figur 6.



Figur 6. Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg EKM per periode.

Produksjonen av CH₄ økte fra 9,5 til 13,3 g/kg EKM fra Periode 1 til Periode 4 for kur på kontrollkraftfôret, som vist i Figur 6. For kyr på forsøkskraftfôr økte produksjonen fra 9,0 til 10,4 g CH₄/kg EKM i samme tidsperiode. Differansen i produksjon av CH₄ mellom behandlingene økte utover i forsøket.

Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag, g/kg TS kraftfôr og g/kg EKM for forsøket gruppert etter ulike perioder er vist i Tabell 14.

Tabell 14. Effekt av behandling på gjennomsnittlig produksjon (Least square means) av CH₄ uttrykt som g/dag, g/kg TS kraftfôr og g/kg EKM gruppert etter periode

	Kontroll	Forsøkskraftfôr	SEM	p-verdi
Periode: Alle				
CH ₄ g/dag	294,4	267,3	9,8	0,019
CH ₄ g/kg TS	36,3	33,0	1,1	0,020
CH ₄ g/kg EKM	11,1	10,0	0,5	0,021
Periode: 1 og 2				
CH ₄ g/dag	290,2	281,1	10,3	0,573
CH ₄ g/kg TS	35,7	34,7	1,3	0,614
CH ₄ g/kg EKM	10,2	9,7	0,4	0,377
Periode: 1 og 3				
CH ₄ g/dag	278,2	266,1	17,9	0,400
CH ₄ g/kg TS	34,4	34,1	2,1	0,469
CH ₄ g/kg EKM	10,1	9,6	0,8	0,373
Periode: 1 og 4				
CH ₄ g/dag	305,0	275,5	12,6	0,053
CH ₄ g/kg TS	37,6	34,0	1,5	0,063
CH ₄ g/kg EKM	11,4	9,7	0,6	0,002

Som det går frem av Tabell 14 var det statistisk sikker effekt ($P < 0,05$) av behandling på gjennomsnittlig produksjon av CH₄ for Periode 1, 2, 3 og 4 uttrykt både som g/dag, g/kg TS kraftfôr og g/kg EKM. For periodene 1 og 2 samt 1 og 3 var denne forskjellen relativt beskjeden, og langt fra statistisk sikker. Forskjellen var statistisk signifikant for CH₄ uttrykt per kg EKM, og nær signifikant for CH₄ uttrykt som g/dag for Periode 1 og 4.

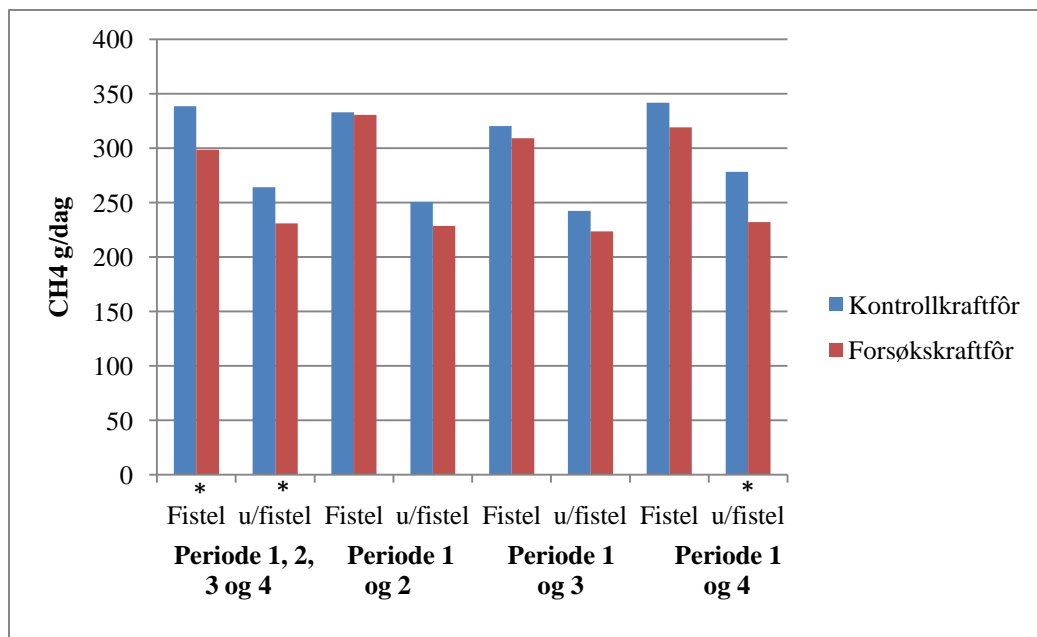
Effekt av fistel på gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag, g/kg TS kraftfôr og g/kg EKM gruppert i ulike perioder er vist i Tabell 15.

Tabell 15. Effekt av fistel på gjennomsnittlig produksjon (Least squares mean) av CH₄ uttrykt som g/dag, g/kg TS kraftfôr og g/kg EKM gruppert etter periode

	m/fistel	u/fistel	SEM	p-verdi
Periode: Alle				
g/dag	314,0	247,7	15,9	0,000
g/kg TS kraftfôr	38,8	30,5	1,8	0,000
g/kg EKM	11,4	9,65	0,9	0,587
Periode: 1 og 2				
g/dag	331,6	239,7	13,1	0,000
g/kg TS kraftfôr	40,9	29,5	3,1	0,000
g/kg EKM	11,0	8,9	0,6	0,002
Periode: 1 og 3				
g/dag	312,1	232,2	32,9	0,019
g/kg TS kraftfôr	38,8	28,7	3,9	0,012
g/kg EKM	10,8	8,9	1,5	0,199
Periode: 1 og 4				
g/dag	324,9	255,6	20,4	0,001
g/kg TS kraftfôr	40,1	31,5	2,5	0,001
g/kg EKM	11,2	9,9	1,1	0,239

Som vist i Tabell 15, hadde fistel en klar signifikant effekt på produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag og g/kg TS kraftfôr ($p < 0,05$). Det var signifikant effekt av fistel på produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg EKM i Periode 1 og 3. For alle parametere og perioder hadde kyr med fistel større produksjon av CH₄ enn kyr uten fistel.

Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag for kyr gruppert etter fistel/ikke fistel i ulike perioder er fremstilt i Figur 7.

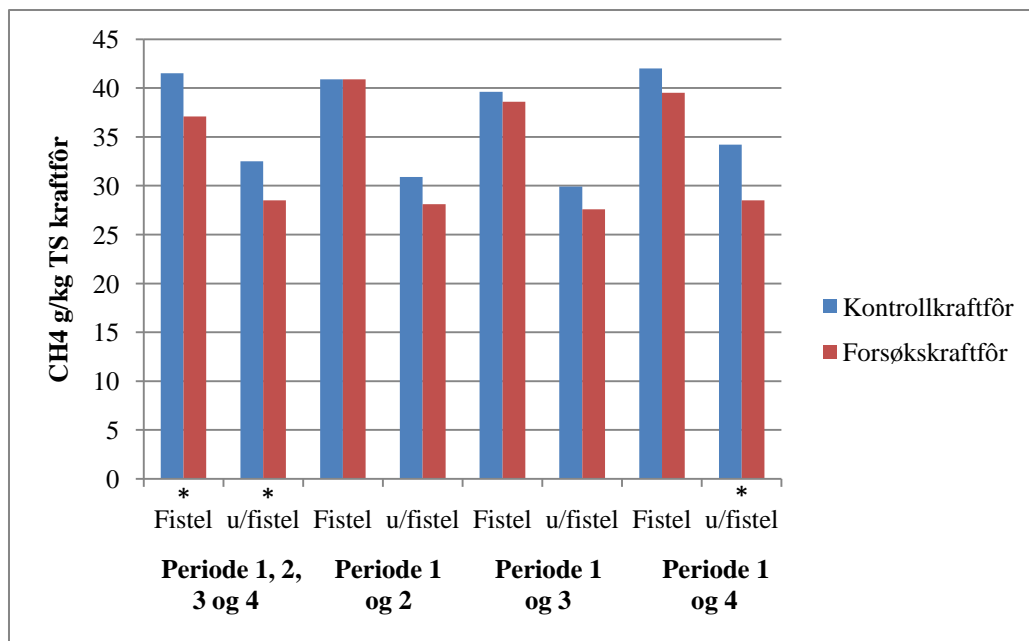


*) $p < 0,05$

Figur 7. Gjennomsnittlig (least square means) produksjon av CH₄ (g/dag) per behandling innen fistel/ikke fistel gruppert etter perioder.

Som vist i Figur 7, hadde behandling signifikant effekt ($p < 0,05$) på produksjon av CH₄ (g/dag) for kyr med fistel og for kyr uten fistel i Periode 1, 2, 3 og 4. Det var også signifikant effekt av behandling for kyr uten fistel i Periode 1 og 4. Kyr med fistel hadde en større produksjon av CH₄ (g/dag) enn kyr uten fistel i alle periodene.

Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg TS kraftfôr for kyr gruppert etter fistel/ikke fistel i ulike perioder er fremstilt i Figur 8.

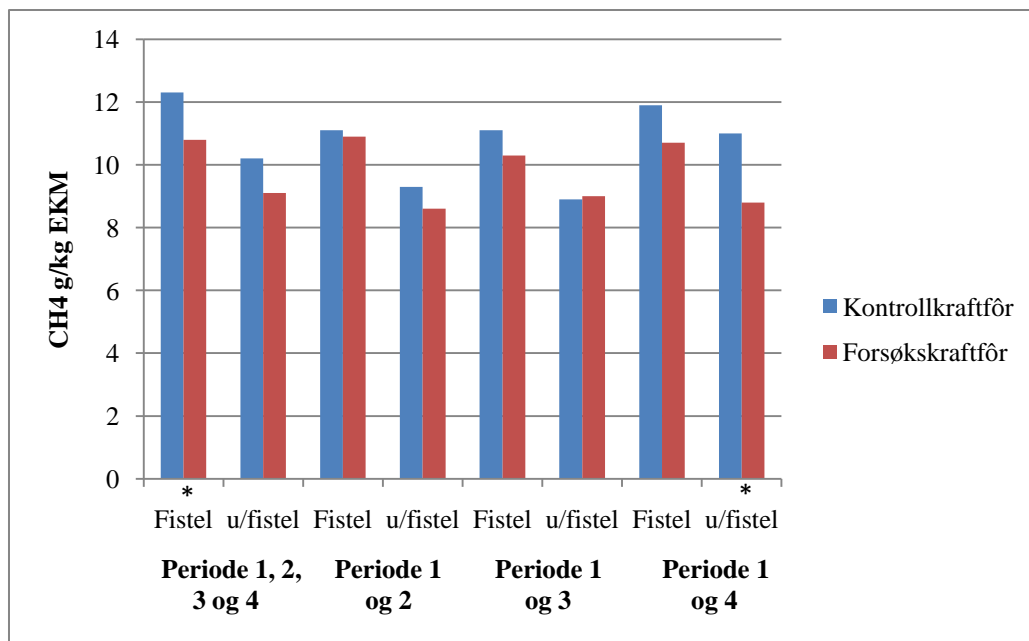


*) $p < 0,05$

Figur 8. Gjennomsnittlig (least square means) produksjon av CH₄ (g/dag) per behandling gruppert etter perioder og om dyrene var fistulert eller ikke.

Som vist i Figur 8, hadde behandling signifikant effekt ($p < 0,05$) på produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg TS kraftfôr for kyr med fistel og for kyr uten fistel i Periode 1, 2, 3 og 4. Det var også signifikant effekt av behandling ($P = 0,002$) for kyr uten fistel i Periode 1 og 4. Kyr med fistel hadde en større produksjon av CH₄ (g/kg TS kraftfôr) enn kyr uten fistel i alle periodene.

Gjennomsnittlig produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg EKM for kyr gruppert etter fistel/ikke fistel i ulike perioder er fremstilt i Figur 9.



*) $p < 0,05$

Figur 9. Gjennomsnittlig (least square means) produksjon av CH₄ (g/dag) per behandling gruppert etter perioder og om dyrene var fistulert eller ikke.

Som vist i Figur 9, var det signifikant effekt av behandling ($p = 0,037$) på produksjon av CH₄ (g/kg EKM) for kyr med fistel i Periode 1, 2, 3 og 4, og for kyr uten fistel i Periode 1 og 4 ($p = 0,000$). Kyr uten fistel i Periode 1, 2, 3 og 4 viste tendens til effekt av behandling (p -verdi = 0,052). For de resterende periodene var det ikke en statistisk signifikant effekt av behandling innen fistel/ikke fistel.

3.2.5 Vektendring

I Tabell 16 er det vist en oversikt over vekt før og etter forsøket.

Tabell 16. Vektendring (kg) fra forsøksstart til forsøksslutt

Ku	Vektendring (kg)	Behandling Periode 1	Behandling Periode 2, 3 og 4
5085	-17,5	Forsøkskraftfôr	Kontrollkraftfôr
5136	-8,5	Kontrollkraftfôr	Forsøkskraftfôr
5137	19,5	Forsøkskraftfôr	Kontrollkraftfôr
5141	24,5	Kontrollkraftfôr	Forsøkskraftfôr
5140	36,5	Kontrollkraftfôr	Forsøkskraftfôr
5142	7,0	Forsøkskraftfôr	Kontrollkraftfôr
5143	4,5	Forsøkskraftfôr	Kontrollkraftfôr
5144	9,0	Kontrollkraftfôr	Forsøkskraftfôr
Gjennomsnitt	9,4		

Som vist i Tabell 16, hadde ku nummer 5140 størst vektendring gjennom forsøket med en økning på 36,5 kg. Ku nummer 5085 hadde størst vekttap med en reduksjon på 17,5 kg fra forsøksstart til forsøksslutt.

3.3 Diskusjon

I 2009 utgjorde klimagassutslippet fra landbruket 8,2 % av de nasjonale utslippene (Statistisk Sentralbyrå 2009b), der ca. 60 % stammer direkte fra husdyr (Harstad & Volden 2009). Storfe bidrar til 74 % av CH₄-utslippene fra landbruket (Volden & Nes 2006), og melkekyr utgjør 34 % av dette (Harstad & Volden 2009). CH₄ har en 21.ganger større effekt på global oppvarming enn CO₂. I og med at CH₄ fra fermentering hos drøvtyggere står så sentralt i klimagassproduksjon fra landbruket er det viktig å komme med effektive tiltak for å redusere utslippene, for eksempel bruk av rapsfrø i rasjonen. Et redusert utslipp av CH₄ fra storfe på 10 % vil redusere utslippet fra landbruket med 6 %.

3.3.1 Metode

Hos drøvtyggere blir CH₄ produsert i vom og skilt ut via gulping og utånding. Noe blir også produsert i de bakre tarmavsnitt og skilt ut via endetarmen. Ved bruk av SF₆-metoden vil ikke produksjon av CH₄ i tarmen fanges opp, i motsetning til ved bruk av respirasjonskammer som måler all gassproduksjon. Nøyaktigheten ved SF₆-metoden ble undersøkt av McGinn et al. (2006) ved å sammenligne metoden med respirasjonskammer ved ulike rasjoner. De fant at produksjon av CH₄ målt ved hjelp av SF₆-teknikken i gjennomsnitt ble undervurdert med 4 % i forhold til ved bruk av respirasjonskammer, men differansen var ikke signifikant ($p > 0,05$). Andelen CH₄ som slippes ut via endetarmen har sammenheng med sammensetningen av rasjonen og fornivå. Redusert vomfordøyelighet, for eksempel ved økt fôropptak, redusert partikkelstørrelse, og varmebehandling av fôret gir økt fermentering i de bakre tarmavsnitt og vil øke utslippet av CH₄ fra baktarm og dermed bidra til at SF₆-metoden undervurderer produksjonen av CH₄. SF₆-metoden viste en tendens til å være mest nøyaktig på rasjoner med stor grovfôrandel (70 %) (McGinn et al. 2006). Ved beiteforsøk er det i praksis ingen alternativ til SF₆-teknikken.

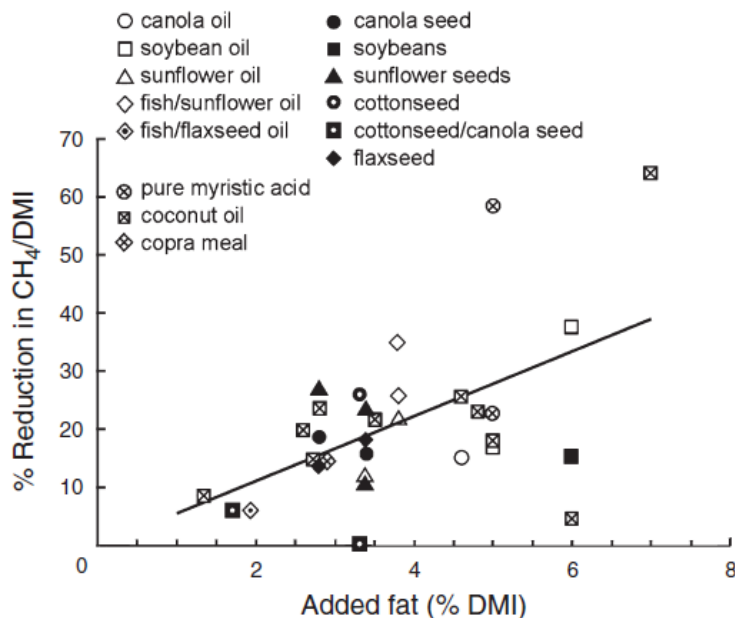
Halvparten av kyrne i forsøket var fistelkyr. Coates et al. (2010) undersøkte om bruk av kyr med fistel kombinert med SF₆-teknikken for å måle produksjon av CH₄ gav større variasjon enn ved bruk av kyr uten fistel. Det ble funnet at fistulerte dyr bidrar til mer variasjon til SF₆-teknikken, som i følge Coates et al. (2010) i utgangspunktet er veldig usikker. I dette forsøket var det, noe overraskende, en større produksjon av CH₄ hos kyr med fistel enn hos kyr uten fistel. Det indikerer at det ikke var tap av CH₄ gjennom vomfistelen, men kyr med fistel viste større variasjon i produksjon av CH₄ enn kyr uten fistel (SE = 12,4 og 9,7 g/dag for

henholdsvis kyr med fistel og kyr uten fistel). Det ble analysert for signifikant forskjell mellom behandling innen fistel eller ikke fistel (Tabell 13), og det var nesten konsekvent lavere p-verdi hos kyr uten fistel enn hos kyr med fistel, antageligvis pga. større variasjon hos kyr med fistel.

Forsøket denne oppgaven er basert på resulterte i en gjennomsnittlig produksjon på 281,4 g CH₄/dag. Så vidt vi kjenner til er det ikke publisert andre forsøk med bruk av raps under beiteforhold for å redusere produksjon av CH₄, men det er utført beiteforsøk med tilskudd av andre fettkilder. Pinares-Patiño et al. (2008) gjennomførte et beiteforsøk med melkekyr i New Zealand og fant en gjennomsnittlig produksjon av CH₄ på 311 g/dag, som samsvarer med produksjonen i dette forsøket. I forsøket til Pinares-Patiño et al. (2008) hadde dyrene en grovfôrbasert rasjon, det er ikke oppgitt om dyrene fikk tilskudd av kraftfôr eller andre fôrmidler. Kyrne var i gjennomsnitt omtrent 140 kg mindre enn kyrne i denne oppgaven og hadde et daglig tørrstoffopptak på ca 17 kg og ytelse på ca 14 liter/dag. Produksjon av CH₄ uttrykt som g/kg levendevekt og g/kg EKM blir i denne oppgaven dermed mindre enn i forsøket til Pinares-Patiño pga. flere kg levendevekt og EKM å fordele produksjonen av CH₄ på. Resultatene kan ikke direkte sammenlignes fordi Pinares-Patiño har oppgitt resultatene uttrykt som produksjon per kg tørrstoffopptak, og ikke g/kg EKM.

Woodward et al. (2006) utførte beiteforsøk med melkekyr i New Zealand. Det ble sett på korttidseffekten av 500 g solsikke- og/eller fiskeolje på produksjon av CH₄ og langtidseffekten av 300 g linfrø og fiskeolje (200 g linfrø og 100 g fiskeolje) på produksjonen av CH₄. Det var en korttidseffekt ved tilskudd av fett med en reduksjon av CH₄ på 27 % uttrykt som g/dag, men ingen langtidseffekt (12 uker) trolig pga. at mikrofloraen tilpasset seg det økte fettinnholdet. I forsøket denne oppgaven er basert på, bestod forsøkskraftfôret av 10 % rapsfrø, som tilsvarer 900 g/dag ved en kraftfôrtildeling på 9 kg/dag. Det ble oppnådd en langtidseffekt (Periode 1 og 4) på produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag, men ingen korttidseffekt (Periode 1 og 2). Gjennomsnittlig ytelse til kyrne i dette forsøket og i forsøket til Woodward et al. (2006) var relativt lik, henholdsvis 28,3 kg EKM/dag og 23 kg/dag. Både Pinares-Patiño et al. (2008) og Woodward et al. (2006) oppgir en daglig produksjon av CH₄ per dyr uttrykt som g/dag som samsvarer med produksjonen av CH₄ uttrykt i g/dag i denne oppgaven.

Beauchemin et al. (2008) presenterte en figur som sammenstilte resultater fra flere publikasjoner der effekten av fetttilskudd på produksjon av CH₄, uttrykt som g/kg tørrstoffopptak, ble undersøkt, se Figur 10.



Figur 10. Sammenheng av resultater fra 33 behandlinger som viser gjennomsnittlig effekt av fetttilskudd fra ulike kilder på den prosentvise reduksjonen i CH₄ uttrykt som g/kg TS opptak (DMI) relatert til kontrollfôret. Den hele linjen viser regresjonslinjen for effekten i forsøkene; $y = 5,562 \times \% \text{ tilsatt fett}$ ($r^2 = 0,67$; $P = 0,004$) (Beauchemin et al. 2008).

Figur 10 viser en reduksjon av omtrent 15-20 % ved tilskudd av rapsfrø (canola seed). Beauchemin et al. (2009) utførte et innendørsforsøk ved bruk av respirasjonskammer med tilskudd av 9 % raps (tørrstoffbasis) i totalrasjonen til melkekyr. I denne oppgaven utgjorde tilskuddet av rapsfrø 10 % av kraftfôret. Tilskuddet førte til en redusert produksjon av CH₄ på 10 % uttrykt som g/dag. Totalt innhold av fett i forsøksrasjonen i forsøket til Beauchemin et al. (2009) var i gjennomsnitt 6,7 %. I denne oppgaven var gjennomsnittlig innhold av fett i kraftfôret 5 %, men innhold i total rasjonen er vanskelig å si noe om pga. manglende verdier for grovfôropptak. Produksjon av CH₄ for kyr med rasjon supplert med rapsfrø var i gjennomsnitt 265 g/dyr/dag, tilsvarende produksjonen i denne oppgaven (267,3 g/dag). Det er også publisert resultater hvor tilskudd av rapsfrø ikke har vist effekt på produksjon av CH₄ (Johnson et al. 2002). I forsøket til Johnson et al (2002) var tilskuddet av rapsfrø maksimum 4,6 % av tørrstoffet, et innhold som var lavere enn i forsøket til Beauchemin et al. (2009). En direkte sammenligning av rapsinnhold i rasjonen i de ulike forsøkene med denne oppgaven er

ikke mulig pga. manglende verdier for grovfôropptaket, men det gir allikevel et inntrykk av differansene og likhetene mellom ulike forsøk.

Kyrne virket uberørt av å ha påmontert utstyr for måling av CH₄, om enn noe urolige første gang utstyret ble montert. Det var få, om noen, problemer ved den praktiske gjennomføringen av forsøket. Noen grimer måtte i løpet av prøvetakingene byttes ut som følge av at de var blitt ødelagt, ofte ved endestykket som ble koblet til yoken (Figur 3). I Periode 1 og 2 ble det gjennomført flere ulike prøveuttak. Uttaket av CH₄ foregikk uten forstyrrelser av andre uttak, unntatt infusjon av Cr-EDTA og Yb-acetat.

Det ble ikke tatt ut prøver for bestemmelse av bakgrunnsverdier av CH₄ og SF₆, men det var lav dyretetthet og konsentrasjonen av CH₄ i fri luft burde ikke ha påvirket resultatene i denne oppgaven. Det samme gjelder konsentrasjonen av SF₆ i fri luft som mest sannsynlig er neglisjerbar.

3.3.2 Effekt av rapsfrø på produksjon av CH₄

Hensikten med forsøket var todelt. Et mål var å undersøke om tilskudd av rapsfrø kunne redusere utslippet av CH₄ fra melkekyr, og dermed bidra til et redusert utslipp av klimagasser fra husdyr og landbruket. Det andre målet var å få tall på produksjon av CH₄ for kyr under norske beiteforhold, noe som ikke er gjort tidligere. Ved å tilsette ekstra fett i rasjonen var det forventet en redusert produksjon av CH₄ fordi det har en hemmende effekt på netto CH₄-produksjon i vomma og tilskudd har vist effekt i andre forsøk (Beauchemin & McGinn 2006; Beauchemin et al. 2009; Calsamiglia et al. 2007; McGinn et al. 2004; Woodward et al. 2006). Fettkilden som ble brukt i dette forsøket, rapsfrø, har i andre forsøk på innefôring gitt en redusert produksjon av CH₄ uttrykt per kg tørrstoffopptak på 16 % (Beauchemin et al. 2009). Rapsfrø er derfor interessant som et tiltak for å redusere utslippet av CH₄ fra drøvtyggere. I tillegg er rapsfrø av spesiell interesse hos oss fordi raps i praksis er den eneste typen oljefrø som under norske forhold kan dyrkes i mengder av betydning.

Det var en statistisk signifikant reduksjon av CH₄-produksjon uttrykt som g/dag (P = 0,001) fra Periode 1 til Periode 4 hos kyr fôret med forsøkskraftfôr (Figur). Reduksjonen var forventet i forhold til tidligere publiserte resultater ved bruk av rapsfrø for å redusere CH₄-produksjon (Beauchemin et al. 2009). Det er vanskelig å forklare endringer i produksjon av CH₄ ut ifra endringer i kjemisk sammensetning i beitegraset fordi det ikke var en systematisk endring i kjemisk innhold i beitegras (Tabell 11). Det tyder på relativt konstante verdier i

beitegras som er gunstig i den forstand at rasjonen dermed har hatt lik kjemisk sammensetning gjennom hele forsøket. Endringene i CH_4 -produksjon kan skyldes endring i tilgang på beite gjennom forsøket, men verdiene for opptak av beitegras er ikke klare. Det er derfor ikke mulig i denne oppgaven å relatere produksjon av CH_4 til totalt fôropptak. På grunn av manglende tall på grovfôropptaket er det heller ikke mulig å vurdere om tilskudd av rapsfrø hadde virkning på fôropptak og fordøyelighet i vom.

Produksjon av CH_4 uttrykt som g/kg EKM økte for begge behandlingene fra Periode 1 til Periode 4, som vist i Figur . På samme tid gikk kyrne ned i vekt og hadde en reduksjon i ytelse uttrykt som kg EKM/dag (Tabell 13), noe som kan ha påvirket resultatene for produksjon av CH_4 (g/kg EKM). Nedgangen i vekt og ytelse kan ha sammenheng med målt beitekvalitet og tilgang. Beitet inneholdt mye ugras (høymole) og var flere ganger helt snaut etter beiting. Dermed hadde kyrne sannsynligvis ikke fri tilgang på beite i motsetning til hva som var planlagt.

3.4 Konklusjon

Tilskudd av rapsfrø i kraftfôret hadde en signifikant effekt på produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag, g/kg TS og g/kg EKM for hele forsøket (alle perioder). Etter 9 uker (Periode 1 og 4) med forsøk var det en statistisk signifikant reduksjon i produksjon av CH₄ ($P < 0,05$) uttrykt som g/kg EKM. Det var en tendens til redusert produksjon av CH₄ uttrykt som g/dag ($P = 0,053$) i Periode 1 og 4. De første 6 ukene av forsøket (Periode 1 og 2) var det ingen signifikant reduksjon i produksjon av CH₄ ($P > 0,05$).

Sammenlignet med kontrollkraftfôret, førte et tilskudd av 10 % rapsfrø i kraftfôret til 9,2 % reduksjon i gjennomsnittlig daglig CH₄-produksjon. Tilskudd av 10 % rapsfrø i kraftfôret til alle drøvtyggere i Norge vil dermed gi et redusert utslipp av CH₄ fra landbruket med 6,8 %.

4.0 Referanser

- AACC. (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC). I. Washington, DC: American Association of Cereal Chemists.
- Aaes, O., Børsting, C. F., Sehested, J. & Hvelplund, T. (2003). Kvægets miljøpåvirkning, med fokus på kvælstof, fosfor og metan. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) DJF rapport Husdyrbrug, *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 - Fodring og produktion*, s. 323-340: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- AOAC. (1990). I: Helrich, K. (red.) *Official Method of Analysis*. Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists Inc.
- Arnold, L. K. & Choudhury, R. B. R. (1961). The Fatty Acid Composition of Cottonseed Oil at Various Stages of Solvent Extraction. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 38 (2): 87-88.
- Asanuma, N., Iwamoto, M. & Hino, T. (1999). Effect of the Addition of Fumarate on Methane Production by Ruminant Microorganisms In Vitro. *Journal of Dairy Science*, 82 (4): 780-787.
- Ashes, J. R., Gulati, S. K. & Scott, T. W. (1997). Potential to Alter the Content and Composition of Milk Fat Through Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 80 (9): 2204-2212.
- Bannink, A., Smits, M. C. J., Kebreab, E., Mills, J. A. N., Ellis, J. L., Klop, A., France, J. & Dijkstra, J. (2010). Simulating the effects of grassland management and grass ensiling on methane emission from lactating cows. *Journal of Agricultural Science*, 148 (1): 55-72.
- Beauchemin, K. A. & McGinn, S. M. (2006). Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science*, 84 (6): 1489-1496.
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Martinez, T. F. & McAllister, T. A. (2007). Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 85 (8): 1990-1996.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F. & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48 (1-2): 21-27.
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C. & Holtshausen, L. (2009). Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 92 (5): 2118-2127.
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., Enishi, O. & Kurihara, M. (2009). Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*, 92 (11): 5512-5522.

- Boone, D. R., Whitman, W. B. & Rouvière, P. (1993). Diversity and Taxonomy of Methanogens. I: Ferry, J. G. (red.) Chapman and Hall Microbiology Series, *Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry and genetics*, s. 35-80. New York: Chapman and Hall.
- Børsting, C. F., Hermansen, J. E. & Weisbjerg, M. R. (2003a). Fedtfor­synin­gens betydning for mælke­pro­duk­tionen. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) b. 54 *Kvæg­ets ernæring og fysiologi. Bind 2 - Fodring og produktion*, s. 133-152: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Børsting, C. F., Weisbjerg, M. R. & Hermansen, J. E. (2003b). Fedtomsætningen i mave­tar­mkanalen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) b. 53 *Kvæg­ets ernæring og fysiologi, bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 313-330: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L. & Ferret, A. (2007). Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2580-2595.
- Chaves, A. V., Thompson, L. C., Iwaasa, A. D., Scott, S. L., Olson, M. E., Benchaar, C., Veira, D. M. & McAllister, T. A. (2006). Effect of pasture type (alfalfa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. *Canadian Journal of Animal Science*, 86 (3): 409-418.
- Coates, T., Farr, B., Beauchemin, K. A. & McGinn, S. M. (2010, October 3-8). *Can the SF₆ tracer gas technique be used to accurately measure methane production from ruminally cannulated cattle*. Proceedings of the 4th International Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture, Banff, Canada.
- Dohme, F., Machmüller, A., Wasserfallen, A. & Kreuzer, M. (2001). Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. *Letters in Applied Microbiology*, 32 (1): 47-51.
- Ekern, A. (1991). Nytt system for energivurdering av fôr til drøvtyggere. *Norsk landbruksforskning*, 5: 273-277.
- Everson, C. S. & Clarke, G. P. Y. (1987). A comparison of six methods of botanical analysis in the montane grasslands of Natal. *Vegetatio*, 73: 47-51.
- Ferry, J. G. (1993). Preface. I: Ferry, J. G. (red.) *Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry and genetics*, s. vii-viii. New York: Chapman and Hall.
- Førtabell: raps- og rybsfrø. (2008). I: *Institutt for Husdyr- og Akvakulturvitenskap og Mattilsynet*. Tilgjengelig fra: <http://statisk.umb.no/iha/fortabell/index.php?env=Fettsyrer&fornr=124> (lest 17.04.2011).
- Garmo, T., Thuen, E., Nes, S. K., Krizsan, S. J., Volden, H., Ollila, V. & Harstad, O. M. (2009). Effekt av grovfôr­kvalitet og kraftfôrnivå på metanemisjon hos mjølkeku. I: Brodin, J. & Fog, M. O. (red.) *Husdyrforsøksmøtet 2009*, s. 147-150. Lillestrøm.
- Grainger, C., Clarke, T., McGinn, S. M., Auldist, M. J., Beauchemin, K. A., Hannah, M. C., Waghorn, G. C., Clark, H. & Eckard, R. J. (2007). Methane Emissions from Dairy Cows Measured Using the Sulfur Hexafluoride (SF₆) Tracer and Chamber Techniques. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2755-2766.

- Grainger, C., Williams, R., Clarke, T., Wright, A. D. G. & Eckard, R. J. (2010). Supplementation with whole cottonseed causes long-term reduction of methane emissions from lactating dairy cows offered a forage and cereal grain diet. *Journal of Dairy Science*, 93 (6): 2612-2619.
- Harstad, O. M. & Volden, H. (2009). Klimagasser fra husdyrbruket. Muligheter for å redusere utslippene. I: Fog, M. O. (red.) *Husdyrforsøksmøtet 2009*, s. 135-138. Lillestrøm.
- Harstad, O. M. & Steinshamn, H. (2010). Cow's diet and milk composition. I: Griffiths, M. W. (red.) *Improving the safety and quality of milk Volume 1: Milk production and processing*, s. 223-245: Woodhead publishing limited.
- Hart, K. J., Martin, P. G., Foley, P. A., Kenny, D. A. & Boland, T. M. (2009). Effect of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation, and microbial populations of zero-grazed beef cattle. *Journal of Animal Science*, 87 (10): 3342-3350.
- Holtshausen, L., Chaves, A. V., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., McAllister, T. A., Odongo, N. E., Cheeke, P. R. & Benchaar, C. (2009). Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92 (6): 2809-2821.
- IPCC. (2007). Climate Change 2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. I: Team, C. W., Pachauri, R. K. & Reisinger, A. (red.), s. 104. Geneva, Switzerland: IPCC.
- Janssen, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*: 22.
- Jenkins, T. C. (1993). Symposium: Advances in Rumen Lipid Metabolism. Lipid Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 76 (12): 3851-3863.
- Jentsch, W., Schweigel, M., Weissbach, F., Scholze, H., Pitroff, W. & Derno, M. (2007). Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Archives of Animal Nutrition*, 61 (1): 10-19.
- Johnson, K. A. & Johnson, D. E. (1995). Methane Emissions from Cattle. *Journal of Animal Science*, 73 (8): 2483-2492.
- Johnson, K. A., Kincaid, R. L., Westberg, H. H., Gaskins, C. T., Lamb, B. K. & Cronrath, J. D. (2002). The Effect of Oilseeds in Diets of Lactating Cows on Milk Production and Methane Emissions. *Journal of Dairy Science*, 85 (6): 1509-1515.
- Johnson, K. A., Westberg, H. H., Michal, J. J. & Cossalman, M. W. (2007). The SF₆ Tracer Technique: Methane Measurement from Ruminants. I: Makkar, H. P. S. & Vercoe, P. E. (red.) *Measuring Methane Production from Ruminants*, s. 33-67: Springer.
- Kirchgessner, M., Windisch, W. & Müller, H. L. (1995). Nutritional Factors for the Quantification of Methane Production. I: Engelhardt, W. v., Leonhard-Marek, S., Breves, G. & Giesecke, D. (red.) *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology*, s. 333-348. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag.
- Kristensen, N. P., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. & Nørgaard, P. (2003). Mikrobiel omsætning i formaverne. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) b. 53 *Kvægets*

- ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 211-238: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Kumar, S., Puniya, A. K., Puniya, M., Dagar, S. S., Sirohi, S. K., Singh, K. & Griffith, G. W. (2009). Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 25 (9): 1557-1566.
- Lassey, K. R., Ulyatt, M. J., Martin, R. J., Walker, C. F. & Shelton, I. D. (1997). Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmospheric Environment*, 31 (18): 2905-2914.
- Lawrence, E. (2005). *Essential oils*. 13 utg. Lawrence, E. (red.). Henderson's dictionary of Biology: Pearson Education Limited. 213 s.
- López, S., Valdés, C., Newbold, C. J. & Wallace, R. J. (1999). Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, 81 (1): 59-64.
- Makkar, H. P. S., Blümmel, M. & Becker, K. (1995). *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69 (4): 481-493.
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49 (3): 241-256.
- Malkomesius, P. E. & Nehring, K. (1951). Chemische Untersuchung von Futtermitteln. I: Hermann, R. (red.) b. 3 *Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik (Methodenbuch)*, s. 25. Berlin, Tyskland: Neumann Verlag.
- McAllister, T. A., Okine, E. K., Mathison, G. W. & Cheng, K.-J. (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76 (2): 231-243.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalg, J. F. D. & Morgan, C. A. (2002a). Digestion. I: *Animal Nutrition*, s. 163-198: Pearson Education Limited.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalg, J. F. D. & Morgan, C. A. (2002b). Grass and forage crops. I: *Animal Nutrition*, s. 495-514: Pearson Education Limited.
- McGinn, S. M., Beauchemin, K. A., Coates, T. & Colombatto, D. (2004). Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *Journal of Animal Science*, 82: 3346-3356.
- McGinn, S. M., Beauchemin, K. A., Iwaasa, A. D. & McAllister, T. A. (2006). Assessment of the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer technique for measuring enteric methane emissions from cattle. *Journal of Environmental Quality*, 35 (5): 1686-1691.
- Mertens, D. R., Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., Gildemeister, B., et al. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85 (6): 1217-1240.
- Miller, T. L. (1995). Ecology of Methane Production and Hydrogen Sinks in the Rumen. I: Engelhardt, W. v., Leonhard-Marek, S., Breves, G. & Giesecke, D. (red.) *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction.*, s. 317-332: Ferdinand Enke Verlag.

- Murray, P. J., Chadwick, D. C., Newbold, C. J. & Lockyer, D. R. (2007). Measurement of Methane from Grazing Animals - the Tunnel Method. I: Makkar, H. P. S. & Vercoe, P. E. (red.) *Measuring Methane Production from Ruminants*, s. 105-109: Springer.
- Münger, A. & Kreuzer, M. (2006). Methane emission as determined in contrasting dairy cattle breeds over the reproduction cycle. *International Congress Series*, 1293: 119-122.
- Nes, S. K. (2007). *Methane production from enteric fermentation in Norwegian cattle*. Ås: UMB, Institutt for Husdyr- og Akvakulturvitenskap. 90 s.
- Nes, S. K., Garmo, T., Chaves, A. V., Harstad, O. M., Krizsan, S. J., Beauchemin, K. A., McAllister, T. A., Norell, L., Thuen, E. & Volden, H. (2011). Effekt av høstetid av grassurfôr på metanemisjon fra melkekyr. I: Brodin, J. & Fog, M. O. (red.) *Husdyrforsøksmøtet 2011*, s. 300-307.
- Nolan, J. V., Hegarty, R. S., Hegarty, J., Godwin, I. R. & Woodgate, R. (2010). Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. *Animal Production Science*, 50 (8): 801-806.
- Nørgaard, P. & Hvelplund, T. (2003a). Antinutrielle faktorer og uønskede stoffer i fordermidler samt giftige planter. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) DJF rapport Husdyrbrug, *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fordervurdering*, s. 87-118: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Nørgaard, P. & Hvelplund, T. (2003b). Drøvtyggenes karakteristika. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) b. 53 *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fordervurdering*, s. 11-38: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- O'Fallon, J. V., Busboom, J. R., Nelson, M. L. & Gaskins, C. T. (2007). A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, 85: 1511-1521.
- Okine, E. K., Mathison, G. W. & Hardin, R. T. (1989). Effects of Changes in Frequency of Reticular Contractions on Fluid and Particulate Passage Rates in Cattle. *Journal of Animal Science*, 67 (12): 3388-3396.
- Pinares-Patiño, C. S., Machmüller, A., Molano, G., Smith, A., Vlaming, J. B. & Clark, H. (2008). The SF₆ tracer technique for measurements of methane emission from cattle - effect of tracer permeation rate. *Canadian Journal of Animal Science*, 88 (2): 309-320.
- Schönhusen, U., Zitnan, R., Kuhla, S., Jentsch, W., Derno, M. & Voigt, J. (2003). Effects of protozoa on Methane production in rumen and hindgut of calves around time of weaning. *Archives of Animal Nutrition*, 57 (4): 279-295.
- Sjaastad, Ø. V., Hove, K. & Sand, O. (2003). The Digestive System. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 489-564. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Soliva, C. R. & Hess, H. D. (2007). Measuring Methane Emission of Ruminants by *In Vitro* and *In Vivo* Techniques. I: Makkar, H. P. S. & Vercoe, P. E. (red.) *Measuring Methane Production from Ruminants*, s. 15-31: Springer.
- St.meld. nr 39. (2008-2009). *Klimautfordringene - landbruket en del av løsningen*. Det Kongelige landbruks- og matdepartement. Oslo. 177 s.

- Statistisk Sentralbyrå. (2009a). *Kildefordelte utslipp til luft. 2009*: Statistisk Sentralbyrå. Tilgjengelig fra: <http://www.ssb.no/klimagassn/tab-2011-02-15-03.html> (lest 28.04.2011).
- Statistisk Sentralbyrå. (2009b). *Utslipp av klimagasser. 1990-2009. Foreløpige tall*. Tilgjengelig fra: <http://www.ssb.no/klimagassn/> (lest 28.04.2011).
- Sveinbjörnsson, J., Huhtanen, P. & Udén, P. (2006). The Nordic dairy cow model Karoline - development of VFA sub-model. I: Kebreab, E., Dijkstra, J., Bannink, A. & Gerrits, W. J. J. (red.) *Nutrient digestion and utilisation in farm animals: modelling approaches*, s. 1-14. Wallingford, UK: CAB International.
- Søegaard, K., Hansen, H. & Weisbjerg, M. R. (2003). Fodermidlernes karakteristika. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) b. 53 *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 39-68: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Technical Note 68. Sample Preparation Techniques for Food and Animal Feed Samples. I: *Accelerated Solvent Extraction*. USA.
- Thauer, R. K., Hedderich, R. & Fischer, R. (1993). Reactions and Enzymes Involved in Methanogenesis from CO₂ and H₂. I: Ferry, J. G. (red.) Chapman and Hall Microbiology Series, *Methanogenesis - Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*, s. 209-252. New York: Chapman and Hall.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. & Case, C. L. (2007). Classification of Microorganisms. I: Berriman, L. (red.) *Microbiology: An introduction*, s. 282-311: Pearson Education, Inc.
- van Zijderveld, S. M., Gerrits, W. J. J., Apajalahti, J. A., Newbold, J. R., Dijkstra, J., Leng, R. A. & Perdok, H. B. (2010). Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. *Journal of Dairy Science*, 93 (12): 5856-5866.
- VanKessel, J. A. S. & Russell, J. B. (1996). The effect of pH on ruminal methanogenesis. *FEMS Microbiology Ecology*, 20 (4): 205-210.
- Volden, H. & Nes, S. K. (2006). Methane emissions from enteric fermentation in Norwegian's cattle and sheep population. Method description I: Hoem, B. (red.) b. Reports 2006/30 *The Norwegian Emissions Inventory 2006*, s. 235-244. Oslo: Statistisk Sentralbyrå / Statistics Norway.
- Weisbjerg, M. R., Lund, P. & Hvelplund, T. (2003). Kulhydratomsætningen i mave-tarmkanalen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) b. 53 *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 239-280: Danmarks JordbrugsForskning. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.
- Wettstein, H.-R., Machmüller, A. & Kreuzer, M. (2000). Effects of raw and modified canola lecithins compared to canola oil, canola seed and soy lecithin on ruminal fermentation measured with rumen simulation technique. *Animal Feed Science and Technology*, 85 (3-4): 153-169.
- Williams, Y. J., Klein, L. & Wright, A. D. G. (2007). A Protocol for the Operation of Open-Circuit Chambers for Measuring Methane Output in Sheep. I: Makkar, H. P. S. & Vercoe, P. E. (red.) *Measuring Methane Production from Ruminants*, s. 11-123: Springer.

- Woodward, S. L., Waghorn, G. C. & Thomson, N. A. (2006). Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane - does it work? *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 66: 176-181.
- Zinder, S. H. (1993). Physiological Ecology of Methanogens. I: Ferry, J. G. (red.) Chapman and Hall Microbiology Series, *Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry and genetics*, s. 128-206. New York: Chapman and Hall.

