





## Føreord

Denne masteroppgåva er skriven ved Institutt for husdyr- og akvakulturvitskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet på Ås, våren 2014. Oppgåva inngjekk som del av eit doktorgradsforsøk om metanproduksjonen i mjølkekyr.

Allereie tidleg i bachelorstudiet mitt skjøna eg at det var ernæring eg hadde størst interesse for. Lagt saman med at store delar av min oppvekst gjekk føre seg i kufjøset heime på Bjorland, var det ingen tvil om at eg ville skrive ein masteroppgåve innanfor drøvtyggjarernæring.

Først og fremst vil eg rette ein stor takk til hovudrettleiar Odd Magne Harstad for å gje meg mogelegheita til å delta i nettopp dette forsøket, og ikkje minst for den gode rettleinga eg har fått gjennom heile prosessen. Tormod Aadnøy fortener òg takk for sitt bidrag til dei statistiske analysane. Takk til alle ved Senter for husdyrforsøk ved IHA for uunnverleg hjelp under gjennomføringa av forsøket, og for å gje meg ei god forståing av rutinar og prosedyrar ved forsøk. Takk til Jikun Chen for godt samarbeid.

Takk til Per M. Bjorland (til dagleg kalla far) for forståing og interesse for eit emne dei aller fleste veit lite om, og til Tanja P. Bjorland (eller mor) for å ha oppmuntra meg og hatt trua på meg heile tida. Sist, men ikkje minst, vil eg takke Olle for å distrahere meg til å heller ha det gøy enn å la mitt dårlege samvit ta overhand.

Eg har lært særst mykje av å skrive denne oppgåva, og har forhåpentlegvis gjort meg godt rusta for å ta fatt på arbeidslivet etter 5 år utruleg fine og lærerike år med studie.

Oslo, 06.06.2014

.....  
Maren Bjorland

## Samandrag

Gjennom millionar av år har drøvtyggjarane utvikla si evne til å fordøye og utnytte tungtløyslege celleveggstoff i plantemateriale ved hjelp av mikroorganismar i vomma. Dei flyktige feittsyrene produsert under fermentering av karbohydrat er den viktigaste energikjelda til drøvtyggjaren, og dei tri viktigaste er i storleiksorden eddiksyre, propionsyre og smørsyre. Eddiksyre og smørsyre vert vanlegvis nytta som energi eller i feittsyntesen, medan propionsyre er det viktigaste substratet for glukoneogenesen. Konsentrasjonen av dei ulike flyktige feittsyrene i vomma vil difor påverke tilgjenge på substrat til dei ulike prosessane.

På grunn av den omfattande fermenteringa av karbohydrat i vomma vert veldig lite glukose absorbert i tarmen. Drøvtyggjaren har likevel eit behov for glukose, og glukoneogenesen er difor av stor betydning. Opptil 60% av all glukose som vert absorbert og syntetisert i drøvtyggjaren går til syntese av laktose. Laktose er den viktigaste osmotiske regulatoren i mjølk, og styrer difor i stor grad mjølkeproduksjonen. Ei endring i gjæringsmønsteret i vom mot meir propionsyre vil kunne auke mengda glukogent substrat, produksjonen av glukose, og dermed mjølkemengda. Meir propionsyre i vom vert typisk produsert på kostnad av eddiksyre. Endra gjæringsmønster vil altså i tillegg kunne endre den kjemiske samansetnaden av mjølk, i hovudsak gjennom mindre substrat til feittsyntesen.

Effekten av tilsetjing av propionsyreproduserande bakteriar på yting og kjemisk samansetnad av mjølk vart undersøkt i to separate forsøk med høvesvis 5 intakte og 4 vomfistulerte dyr. Dei to forsøka var bygd opp likt og hadde same form for behandlingar: ei bakteriebehandling som fekk tilført levande propionsyrebakteriar i ei løysing med vekstmedium, og ei kontrollbehandling som berre fekk tildelt vekstmediet. Kyrne vart fôra med ein rasjon som besto 60% grovfôr og 40% kraftfôr som var tilpassa næringsbehova til kvar enkelt ku.

Tilsetjing av propionsyrebakteriar hadde beskjedne til ingeneffektar på alle parametarar. Fôropptaket vart redusert med opptil 0,4 kg tørrstoff/dag. pH og konsentrasjon av flyktige feittsyrer avveik noko frå tilsvarande målingar i kontrollbehandlinga, medan ein såg ein svak reduksjon i mjølkemengd ved tilføring av propionsyrebakteriar. Den kjemiske samansetnaden av mjølka var relativt upåverka av behandling.

I og med at propionsyrebakteriane utøva ein såpass svak effekt på produksjonen av flyktige feittsyrer og tilgjenget av substrat til ulike prosessar, er det truleg dette som er den viktigaste årsaka til den låge responsen i mjølkeproduksjon og kjemisk samansetnad av mjølka. Den svake reduksjonen i mjølkemengd heng mest sannsynleg saman med det tilsvarande reduserte opptaket av netto energi. Mekanismane bak det reduserte fôropptaket er uklare.

## Abstract

Through millions of years, ruminants have developed their ability of digesting and utilize cell wall components of plant material, facilitated by the microorganisms inhabiting the rumen. The fermentation of carbohydrates yields volatile fatty acids, the most important ones being acetic acid, propionic acid and butyric acid. These fatty acids constitute the most important source of energy to the ruminant. Acetic and butyric acid are usually utilized for energy or for fatty acid synthesis, while propionic acid is the most important substrate for gluconeogenesis. Thus, the rumen concentration of the different volatile fatty acids will affect the availability of substrate to the different processes.

Due to the extensive rumen fermentation of carbohydrates, modest amounts of glucose are absorbed in the gut. Still, the ruminant has a demand for glucose which means that the gluconeogenesis is of great importance. Up to 60% of the glucose absorbed and synthesized in the ruminant is used for synthesizing lactose. Lactose is the most important osmotic component of milk, hence it largely determines milk yield. Shifting the rumen fermentation pattern towards more propionic acid can increase the amount of gluconeogenic substrate, the production of glucose and thereby the amount of milk produced. A higher amount of propionic acid is usually exerting a negative effect on the production of acetic acid. Therefore, shifting the rumen fermentation pattern could also change the chemical composition of milk, mainly through yielding less substrate for the synthesis of fats.

To see if adding propionibacteria to the rumen had any effects on yield and chemical composition of milk, two separate experiments were conducted. The design and treatments of the experiments were the same, where the treatments were 1) a bacteria treatment with supplementation of propionibacteria in a solution of growth medium and 2) a control treatment with supplementation the very same growth medium only. All animals were fed a ration consisting of 60% of roughage and 40% of concentrates, based on their individual nutritional needs.

Supplementing propionibacteria had only small to none effects on all parameters measured. Feed intake was slightly reduced with a reduction of maximum 0,4 kg of dry matter/day. The pH-value and the production of volatile fatty acids barely differed from those of the control treatment, while the milk yield responded slightly negatively to the bacterial treatment. Also the chemical composition of milk was relatively unaffected by treatment.

Considering the limited effects of the propionibacteria on the production of volatile fatty acids, this is likely to be the most important reason for the modest response in milk yield and milk composition. Supplementation of propionibacteria simply did not affect the fermentation products of the rumen to such a degree that any secondary effects on production parameters were exerted. The slight reduction in milk yield probably is closely connected to the reduced energy intake for the same treatment. The mechanisms behind the lowered feed intake are not known.

## Innhald

1.0 Innleiing .....	3
2.0 Tilføring av substrat til juret for mjølkesyntese .....	6
2.1 Kort om omsetjing av fôr og absorpsjon av substrat i fordøyingskanalen.....	6
2.2 Intermediær omsetjing og mjølkesyntese.....	7
2.2.1 Glukose.....	7
2.2.2 Aminosyrer.....	8
2.2.3 Feittsyrer.....	9
2.2.4 Eddiksyre.....	9
2.2.5 Propionsyre.....	9
2.2.6 Smørsyre.....	10
2.2.7 Ammoniakk.....	10
2.2.8 Mjølkesyntesen.....	10
2.3 Fôringsrelaterte faktorer som påverkar tilførselen av substrat til juret, yting og kjemisk samansetnad av mjølka.....	14
2.3.1 Energi- og proteintilføring .....	14
2.3.2 Forholdstal mellom grovfôr og kraftfôr .....	15
2.3.3 Eigenskapar ved grovfôret .....	16
2.3.4 Eigenskapar ved kraftfôret .....	16
2.3.5 Fôringsrutinar .....	17
2.4 Resultat frå forsøk med tilskott av ekstra propionsyre i vomma.....	17
2.5 Resultat frå forsøk med tilsetjing av propionsyreproduserande bakteriar i vomma .....	19
3.0 Eigne forsøk .....	21
3.1 Materiell og metode .....	21
3.1.1 Gjennomføring av forsøket .....	21



3.1.2 Forsøksdyr .....	21
3.1.3 Forsøksdesign .....	22
3.1.4 Fôr .....	24
3.1.5 Preparering av løysing for infusjon .....	26
3.1.6 Tilføring av propionsyrebakteriar .....	26
3.1.7 Prøvar og analysar .....	26
3.1.8 Berekningar .....	28
3.1.9 Statistiske analysar .....	29
3.2 Resultat .....	30
3.2.1 Fôr .....	30
3.2.2 Fôropptak .....	30
3.2.3 Vom-pH og gjæringsmønster .....	32
3.2.4 Mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølka .....	38
3.2.5 Fôreffektivitet .....	42
3.3 Diskusjon .....	45
3.3.1 Fôr og fôropptak .....	45
3.3.2 Vom-pH og gjæringsmønster .....	46
3.3.3 Mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølka .....	49
3.3.4 Fôreffektivitet .....	52
3.4 Konklusjon .....	53
4.0 Litteraturliste .....	54

## 1.0 Innleiing

Drøvtyggjarar har gjennom millionar av år utvikla si evne til å fordøye og utnytte celleveggstoff i plantemateriale, som utgjer ein stor del av deira grasbaserte diett (Van Soest 1994). Fordøyinga skjer ved ei mikrobiell fermentering av fôret i formagane. Mikrobane i vomma bryt trinnvis ned dei lange karbohydratkjedane til kortare kjedar og etter kvart glukose (Kristensen, N. B. et al. 2003a). Medan fermenteringa av karbohydratane skjer ved at mikroorganismane bind seg til overflata av fôrpartiklane, skjer nedbrytinga av glukose inne i mikroorganismen, gjennom glykolysen. Pyruvat er sluttproduktet frå glykolysen, og gjennom indre metabolske prosessar vert pyruvat omsett til m.a. flyktige feittsyrer (FFS). Dei flyktige feittsyrene er avfallsproduktet for mikrobane i deira utnytting av energi, men den viktigaste energikjelda for drøvtyggjarar (Sjaastad et al. 2010).

Dei tri viktigaste flyktige feittsyrene produsert i vom er, ordna etter mengd produsert: eddiksyre, propionsyre og smørsyre (Dijkstra 1994). I tillegg vert det produsert andre feittsyrer i små mengder, som valeriansyre, iso-valeriansyre og iso-smørsyre. Eddiksyre og smørsyre vert i hovudsak nytta i cellene som energi eller inngår i feittsyntesen (Kristensen, N. B. et al. 2003b). Propionsyre er ei glukogen feittsyre, og er det viktigaste substratet for glukoneogenesen i levera hjå drøvtyggjarar (Danfær et al. 1995). Glukoneogenesen er avgjerande for glukosenivået i drøvtyggjaren sidan forsvinnande lite glukose vert teke opp frå tarmen (McDonald et al. 2011), og glukose vert difor syntetisert frå mellom anna propionsyre og glukogene aminosyrer. Glukosen produsert gjennom glukoneogenesen vert nytta både som energi for celler i heile kroppen, og som byggjestein for meir komplekse molekyl.

Glukose inngår til dømes i disakkaridet laktose – som består av eitt glukosemolekyl og eitt galaktosemolekyl (Sjaastad et al. 2010). Laktosemolekyla vert syntetisert utelukkande i epitelcellene i juret, og tilgjenget på glukose og adenin-trifosfat (ATP) er avgjerande for å drive syntesen. Mengda laktose syntetisert har direkte verknad på kor mange liter mjølk som vert produsert i juret, på grunn av det osmotiske trykket laktose bidreg med i mjølka. Mjølk har vanlegvis ein osmolaritet på om lag 300 mosmol/L, der laktose står for 50% av dette talet (Sjaastad et al. 2010). Skilnaden i osmolaritet mellom blod og jurcellene gjer at vatn vert drege inn i cellene, og mjølka aukar i volum (Guinard-Flament et al. 2006). Om laktoseinnhaldet aukar

eller vert redusert, vil altså mjølkemengda reflektere dette, og teoretisk sett kan det førast tilbake til mengd glukogent substrat tilgjengeleg i kroppen.

Ei relativt kjend hypotese er difor at auka mengd propionsyre skal auke mengda substrat tilgjengeleg for glukoneogenese i levera, og dermed ha ein direkte effekt på kg mjølk produsert. Hypotesen kan testast på to ulike måtar, anten ved å tilsetje levande propionsyrebakteriar til vomma (Stein et al. 2006; Lehloenya et al. 2008; Weiss et al. 2008), eller ved å tilsetje berre propionsyre (Hurtaud et al. 1993; Rigout et al. 2003; Lemosquet et al. 2009). Resultata har vore noko varierende, men ein har sett ein tendens til aukande mjølkemengd når ein tilfører vomma ekstra propionsyre eller propionsyrebakteriar (Rigout et al. 2003; Stein et al. 2006; de Ondarza & Seymour 2008).

Det har òg vorte føreslått at mengd propionsyre produsert i vomma kan ha ein effekt på mjølkesamansetnad i tillegg til mjølkemengd. Denne hypotesen er basert på at ei endring i gjæringsmønster vil endre fermenteringa, og dermed òg vomkonsentrasjon av dei ulike flyktige feittsyrene. Endringa i gjæringsmønsteret skjer på grunn av ein auke i produksjonen av propionsyre, og substrattilgjengen skiftar mot ein større del glukogent substrat og mindre substrat til feittsyntese. Forsøk innanfor emnet har påvist ein reduksjon i feittkonsentrasjonen i mjølka og endra samansetnad av mjølkefeitt ved å tilsetje propionsyre eller propionsyrebakteriar til vomma (Hurtaud et al. 1993; Rigout et al. 2003; Lehloenya et al. 2008). Det er òg føreslått at ei auka mengd glukogent substrat kan ha ei sparande effekt på glukogene aminosyrer. Forsøk har verken bevist eller motbevist dette: produksjonen av mjølkeprotein tenderar mot ein liten auke (Rigout et al. 2003; Stein et al. 2006), eller inga endring i proteinmengda (Hurtaud et al. 1993; Weiss et al. 2008).

Bakgrunnen for forsøka som denne oppgåva omhandlar, var i utgangspunktet å avklare om tilføring av propionsyrebakteriar i vomma hadde ein effekt på produksjonen av metangass. Metan ( $\text{CH}_4$ ) vert primært danna i vomma gjennom å redusere karbondioksid ( $\text{CO}_2$ ) med hydrogengass ( $\text{H}_2$ ) (Sjaastad et al. 2010). Produksjon av eddiksyre og smørsyre gjer ei større mengd  $\text{H}_2$  enn produksjon av propionsyre, som tvert imot gjer eit nettoforbruk av gassen (Kristensen, N. B. et al. 2003a). Å endre gjæringsmønsteret slik at meir propionsyre vert produsert på kostnad av eddiksyre og smørsyre er difor tenkt å redusere metangassproduksjonen.

Bakgrunnen for dette forsøket var som nemnt å forsøke å nytte propionsyrebakteriar for å redusere metangassproduksjonen i vomma. I samband med det planlagde forsøket vart formålet for mi masteroppgåve formulert; å teste om den tilførte mengda propionsyrebakteriar hadde ein effekt på mjølkemengd- og samansetnad. Spørsmålet er formulert på grunnlag av mange utydelege resultat i tidlegare forsøk som omhandla same problemstilling. Oppgåva består av ein teoridel og ein eksperimentell del. I teoridelen vart det lagt mest vekt på å samanfatte korleis tilgjenge av ulike substrat til mjølkesyntesen vert påverka av det komplekse samspelet mellom fôring og vommiljø, medan den eksperimentelle delen utforskar eventuell effektar av fleire propionsyrebakteriar i vomma.

## 2.0 Tilføring av substrat til juret for mjølkesyntese

### 2.1 Kort om omsetjing av fôr og absorpsjon av substrat i fordøyingskanalen

I vomma vert fôrpartiklane angripne av mikroorganismar som festar seg til overflata.

Mikroorganismane skil ut enzym som bryt bindingane mellom plantecellene, og bryt dei ned til kortare bestanddelar som sukker, kortkjeda peptid og frie feittsyrer (Cheeke & Dierenfeld 2010).

Karbohydrat som når vomma vert hovudsakleg brotne ned av ulike typar bakteriar. Bakteriane bryt ned lengre karbohydrat frå fôret til kortkjeda sukker som dei kan utnytte som energi til eigen vekst (Andresen et al. 2003). Dei tek opp kortkjeda sukker, som gjennom fleire ulike prosessar inne i mikroorganismen vert brotne ned til pyruvat (McDonald et al. 2011). Pyruvat er endeproduktet frå sukkernedbrytinga i bakterien, og det substratet som vert nytta som energi i cellene.

Frå nedbrytinga av pyruvat vert flyktige feittsyrer danna som endeprodukt, skilt ut frå bakteriane og ut i vomma (McDonald et al. 2011). Det er desse feittsyrene drøvtyggjaren nyttar som sitt viktigaste energisubstrat. Dei tri kvantitativt viktigaste flyktige feittsyrene er i storleiksorten eddiksyre, propionsyre og smørsyre. Eddiksyre vert hovudsakleg produsert under fermentering av celleveggstoff, propionsyre under fermentering av stive, medan smørsyre oppstår ved fermentering av sukker (Kristensen, N. B. et al. 2003a).

70-80% av dei flyktige feittsyrene produsert under fermentering av karbohydrat vert absorberte over vomepitelet og over i blod (Sjaastad et al. 2010). Eddiksyre passerer vomveggen uendra, det same gjer 95% av propionsyre. Dei resterande 5% av propionsyre vert omdanna til laktat under absorpsjonen. Absorpsjonen av smørsyre føregår litt annleis, då mesteparten av denne feittsyra vert omdanna til  $\beta$ -hydroksybutyrat under passasjen over vomepitelet. Dei flyktige feittsyrene si evne til å verte absorbert over vomveggen er i stor grad regulert av syrekonstanten, eller pKa-verdiane, deira (Sjaastad et al. 2010). pKa-verdiane for FFS ligg mellom 4,6 og 4,8, og er mykje lågare enn normal pH i vom (6,8). Under slike forhold vil syrene finnast på dissosiert form, altså som anion og  $H^+$ . Udissosierte syrer diffunderer lettare inn i epitelcellene i vomveggen enn dissosierte (Dijkstra 1994). Difor, når ein får eit dropp i pH t.d. ved rask produksjon av flyktige feittsyrer, vil den lågare pH-verdien skyve likevekta motsett veg, slik at delen udissosierte syrer aukar (Dijkstra et al. 2012). Dette vil så auke absorpsjonen av FFS frå vomma.

Protein tilført vomma frå fôret vert i størst grad brote ned av bakteriar og protozoar (Hvelplund et al. 2003). Fôrprotein som er løyseleg i vom vert fort brote ned til aminosyrer og vidare til ammoniakk, som mikrobane nyttar til syntese av mikrobeprotein. Vommikrobane kan òg nytte non-protein nitrogen (NPN) til syntese av protein (Leng & Nolan 1984). NPN vert på same måte som protein omdanna til ammoniakk som inngår i vompoolen av den sambindinga.

Mikrobeproteinet vert først tilgjengeleg for kua når mikrobane døy og forsvinn ut av vomma for vidare fordøying og absorpsjon i tarmen. Fôret kan òg innehalde relativt store mengder protein som er ufordøyeleg i vom, eller bypass-protein. Denne typen protein går ufordøya gjennom vomma og vert fordøya og absorbert i tarmen.

I tilfelle der proteinnedbrytinga i vomma går fortare enn proteinsyntesen, vil ein få eit overskott av ammoniakk (McDonald et al. 2011). Når konsentrasjonen i vomma overstiger det optimale nivået, vil ammoniakkmolekyla diffundere over vomveggen på grunn av konsentrasjonsgradienten til blodet. Dette vil fortsetje til konsentrasjonen når eit normalt nivå.

Drøvtyggjarar får vanlegvis i seg feitt i form av langkjeda feittsyrer, anten frie eller bundne saman med glyserol i triglyserid (Sjaastad et al. 2010). Bindingane mellom molekyla i triglyserida vert brotne opp gjennom hydrolyse, og glyserol og frie feittsyrer vert frigjorte. Glyserol vert nytta av mikroorganismane som energi og omdanna til FFS, medan dei frie feittsyrene vert hydrogenerte til ei delvis eller fullstendig metta form (Cheeke & Dierenfeld 2010). Fullstendig hydrogenering av dei feittsyrene som er dominerande i fôret resulterer i stearinsyre (Børsting et al. 2003). Ei fullstendig hydrogenering skjer likevel ikkje alltid, noko som kan resultere i trans-feittsyrer, som er intermediat i hydrogeneringa. Dei hydrogenerte feittsyrene bind seg til fôrpartiklar, og vert frakta ut av vomma saman med desse.

## **2.2 Intermediær omsetjing og mjølkesyntese**

### **2.2.1 Glukose**

På grunn av den omfattande fermenteringa av karbohydrat i vomma er det ei relativt lita mengd glukose som når tynntarmen hjå drøvtyggjarar (Kristensen, N. B. et al. 2003b). Drøvtyggjaren har likevel eit behov for glukose, og tilføring av sukkeret skjer difor gjennom glukoneogenesen. Denne prosessen skjer i levera og i nyrene, der levera har den mest omfattande syntesen (Sjaastad et al. 2010).

Fleire intermediat kan fungere som substrat for glukoneogenesen. I drøvtyggjaren er propionsyre frå vomma det viktigaste, men òg glukogene aminosyrer, laktat og glyserol vert nytta (Danfær et al. 1995). Glukogene aminosyrer og glyserol er spesielt viktig i situasjonar med dårleg energitilføring der dyret ikkje får tilført nok propionsyre til å oppretthalde normal glukoseproduksjon. Aminosyrer og laktat vert omdanna til pyruvat før dei går inn i glukoneogenesen, medan glyserol vert omdanna til dihydroksyacetonfosfat og entrar syklusen på eit seinare stadie (McDonald et al. 2011).

I vanlege situasjonar med nok fôr er det i hovudsak hormona insulin og glukagon som styrer opptak og syntese av glukose i cellene (Madsen & Nielsen 2003). Saman held dei glukosekonsentrasjonen i blodet ved lag på eit relativt stabilt nivå. Insulinproduksjonen vert stimulert av høge glukoseverdiar i blodet, og aukar deretter glukoseopptaket i cellene (Sjaastad et al. 2010). Glukagon fungerer motsett av insulin; når glukosekonsentrasjonen i blodet er låg, vert meir glukagon skilt ut, med stimulering av glukoneogenese som resultat. Eit unntak frå regelen er jurceller, som ikkje vert påverka av insulin i same omfang som resten av kroppen. Dette medfører at i situasjonar med låge glukoseverdiar og påfølgjande låge insulinverdiar i kroppen, vert glukoseopptak i juret favorisert (Madsen & Nielsen 2003).

### 2.2.2 Aminosyrer

Sjølve fordøyinga av proteinet skjer etter at det har forlate vomma, og når løypemagen (Hvelplund et al. 2003). Nedbrytinga skjer på same måte for både bypass-protein og mikrobeprotein; proteinet vert utsett for ei blanding av saltsyre og enzymet pepsin, som spaltar proteinet til store peptid. Frå løypemagen går peptida vidare til tynntarmen, der ei vidare fordøying skjer. Enzym vert tilført tynntarmen frå bukspyttkjertelen og mucosa i tarmveggen, og peptida vert brotne ned til aminosyrer og små peptid. Når proteina har vorte brotne ned til så små molekyl, vert dei absorberte over tarmveggen ved hjelp av aktiv transport.

Ein stor del av peptida og aminosyrene som vert absorberte frå fordøyingskanalen vert tekne opp av leverceller via portåresystemet (Sjaastad et al. 2010). I levera vert aminosyrene nytta til proteinsyntese innanfor organet, mellom anna til delemne av levera, enzym og hormontransportørar. Andre igjen vert omdanna til ketosyrer; aminogruppa vert fjerna frå aminosyra. Desse ketosyrene inngår i karbohydratmetabolisme, og kan då forsyne levera med energi. Ketosyrer kan òg vert omdanna til feittsyrer som kan inngå i feittsyntese.

Aminosyrer absorbert frå tynntarmen som ikkje vert teke opp av levera, går direkte inn i blodsirkulasjonen og vert frakta til andre vev, t.d. musklar og jur (Hvelplund et al. 2003). Aminosyrene inngår då i proteinsyntesen i cella, der dei forskjellige veva produserer sine egne spesielle typar protein (Sjaastad et al. 2010). I situasjonar med mangel på glukose kan aminosyrer òg vert nytta som glukogent substrat, som nemna i avsnittet om glukose.

### 2.2.3 Feittsyrer

Lengrekjeda feittsyrer vert i tarmen hydrogenert av enzym, emulgerte og konsentrerte i miceller saman med gallesalt (NRC 2001). Desse micellene gjer at feittet, som elles er uløseleg i vatn, kan passere vasslaget i overflata på tarmepitelet, og dermed passere inn i epitelcellene (McArthur et al. 1999). Inne i epitelcellene vert feittsyrene re-esterifiserte saman med glukose til å danne triglyserid (Kristensen, N. B. et al. 2003b). Triglyserida vert samla i chylomikron, som er eit lipoprotein (Sjaastad et al. 2010). Chylomikrona er for store til å verte frakta over i kapillærårene, og vert difor frakta via lymfevæska. Når lymfevæska når levera, vert chylomikrona frakta vidare gjennom blodet. Chylomikrona festar seg til kapillærveggane og vert spalta av lipoproteinlipase til frie feittsyrer og glyserol (Madsen & Nielsen 2003). Dei frie feittsyrene kan, saman med glyserol, så verte nytta direkte som energisubstrat i forskjellige vev, t.d. muskelvev. Mesteparten av dei frigjorte feittsyrene vert likevel nytta til syntese av nye triglyserid i vev som feitt og jur. I feittvev vert triglyserida lagra i feittdepot, medan dei i jurvev er eit delemne i mjølkefeittet.

### 2.2.4 Eddiksyre

Eddiksyre absorbert frå vomma passerer levera via portåresystemet og vert så skilt ut i blodstraumen i uendra form (McDonald et al. 2011). Berre små mengder eddiksyre vert teke opp av levera, og størsteparten av eddiksyra som vert absorbert frå vomma er dermed direkte tilgjengeleg for cellene (Kristensen, N. B. et al. 2003b). Eddiksyre vert nytta som energi i mange forskjellige vev, t.d. musklar, der feittsyra vert omdanna til ATP via acetyl-CoA (Van Houtert 1993). I jurvev og feittvev inngår eddiksyre hovudsakleg i feittsyntese (Madsen & Nielsen 2003).

### 2.2.5 Propionsyre

Propionsyre er det viktigaste glukogene substratet for drøvtyggjarar, og utgjer opptil 50-60% av den totale mengda substrat for glukoneogenesen (Danfær et al. 1995) Propionsyre frå fermenteringa i vomma vert frakta via blodet til levera der det inngår i glukoneogenesen og vert omdanna til glukose (Van Houtert 1993). Propionsyre er òg opphavet til små mengder laktat, som



vert danna under absorpsjon over vomveggen (McDonald et al. 2011). Laktat vert, på same måte som propionsyre, frakta til levera via blodet (Sjaastad et al. 2010). I levera vert laktat omdanna til glukose gjennom mjølkesyresyklusen.

### 2.2.6 Smørsyre

Under absorpsjonen over vomveggen vert mesteparten av smørsyra omdanna til ketonstoffa  $\beta$ -hydroksybutyrat og acetoacetat, der  $\beta$ -hydroksybutyrat er kvantitativt viktigast (Van Houtert 1993). Smørsyre som unngår omdanning over vomveggen vert frakta til levera og omdanna til acetyl-CoA og  $\beta$ -hydroksybutyrat. Omdanninga av smørsyre til  $\beta$ -hydroksybutyrat er veldig viktig fordi for store mengder smørsyre i plasma hemmar glukoneogenese frå propionsyre (Sjaastad et al. 2010).  $\beta$ -hydroksybutyrat vert frakta med blodet ut til perifere vev (Kristensen, N. B. et al. 2003b), og vert omdanna til energi i muskelvev, medan det hovudsakleg vert nytta i feittsyntesen i jurvev og feittvev (Madsen & Nielsen 2003).

### 2.2.7 Ammoniakk

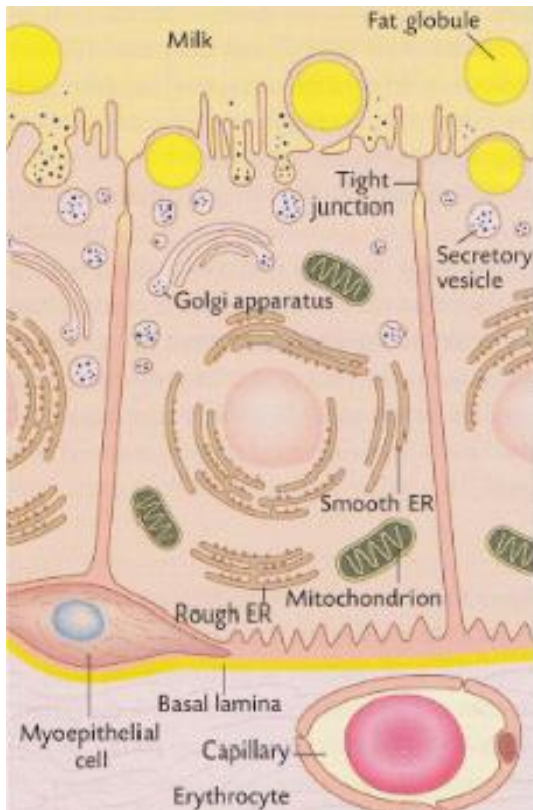
Overskottet av ammoniakk, eller  $\text{NH}_3$ , frå vomma vert omdanna til urea, og prosessen skjer i hovudsak i levera (Sjaastad et al. 2010). Ammoniakk vert òg kontinuerleg produsert under nedbryting av aminosyrer i levera. Dette vert, på same måte som  $\text{NH}_3$  frå vomma, omdanna til urea. Denne omdanninga til urea er naudsynt fordi  $\text{NH}_3$  i store mengder kan ha ei toksisk effekt på nevrona. I levera vert  $\text{NH}_3$  først omdanna til karbamoylfosfat under nærværet av  $\text{CO}_2$  og enzym (McDonald et al. 2011). Når karbamoylfosfat er danna, kan dette inngå i ureasyklusen ved å reagere med ornitin og danne sitrullin. Herfrå vert urea danna via arginosukkinat og arginin.

Når urea er danna vert det anten skilt ut gjennom urin og mjølk eller når vomma igjen på ein av to ulike måtar; via diffusjon frå blod til spytt, eller ved diffusjon direkte over vomveggen (Huntington & Archibeque 1999). På denne måten kan drøvtyggjaren nytte overskottsnitrogen til å syntetisere meir mikrobeprotein på same tid som utskiljinga frå kroppen vert redusert.

### 2.2.8 Mjølkesyntesen

Hjå kyr vert mjølka produsert i fire separate mjølkekjertlar som til saman utgjer juret, der alveolane er dei funksjonelle cellene. Mjølke er ein emulsjon, og kan delast opp i ein vassfase og ein lipidfase (McDonald et al. 2011). I vassfasen finn ein laktose, protein, mineral og vassløselege vitamin. I lipidfasen, som i mjølka er i form av mikroskopiske feittdropar, finn ein feitt, feittløselege vitamin og feittbundne protein. Næringsstoffa ein finn i mjølk har alle sitt

opphav frå føret som vert tilført dyret; anten dei vert absorberte direkte frå blodet og over i mjølka, eller om dei vert syntetiserte i epitelcellene i juret frå næringsstoff frakta med blodet frå fordøyingskanalen. Figur 1 syner ein illustrasjon av ei epitelcelle i juret med forklaring til ulike organellar og sekret.



Figur 1 Illustrasjon av epitelcelle i juret. Frå Sjaastad et al. (2010).

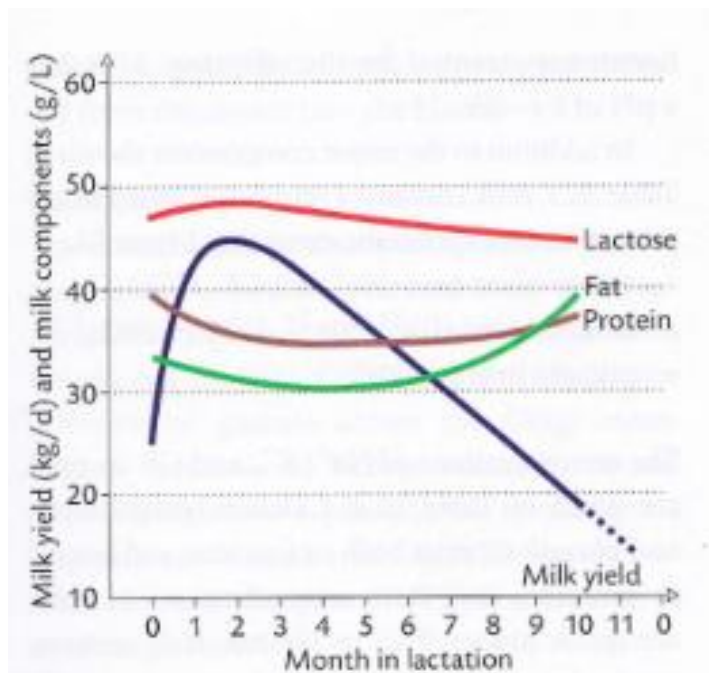
### Laktose

Laktose er eit disakkarid sett saman av glukose og galaktose. Når glukosen når jurcellene, vert laktose danna i Golgiapparatet i epitelcella, mellom anna ved hjelp av ATP og enzymet laktose syntase (Sjaastad et al. 2010). Laktose syntase dannar ei  $\beta$ -1-4-binding mellom glukose og galaktose, og denne prosessen kan berre skje i mjølkekjertlane. Ei dekkjande tilføring av glukose til juret er difor avgjerande for laktosesyntesen i kua.

Laktose utgjer om lag 50% av osmolariteten i mjølk, og er dermed den viktigaste osmotiske komponenten (Hermansen et al. 2003). Dei andre substansane som bidreg til osmolariteten på om lag 300 mosmol/L er stort sett frie ion. Osmolaritetsskilnaden mellom innsida av epitelcella og

blodet avgjer kor mykje vatn som vert absorbert inn i cella, og dermed òg mjølkevolumet (Strudsholm 2003). Laktose vert difor ofte rekna som den avgjerande faktoren for mjølkemengd.

Ei ku som får tildelt ein rasjon som dekkjer nærings- og vassbehovet hennar, vil vise små endringar i laktosesyntesen gjennom laktasjonen. Årsaka til dette er at ein laktosekonsentrasjon på 4,5-5% av mjølkevolumet er det som gjer ein osmotisk balanse, og kroppen vil difor prøve å halde dette mest mogeleg konstant (Hermansen et al. 2003). Laktosekonsentrasjonen er høgast ved topplaktasjon, om lag 2 månader etter kalving, og går så sakte nedover mot avgjelding (figur 2). Unormalt låge laktoseverdiar kan oppstå i periodar med underdekning på energi, og dermed glukose, eller om kua av ulike årsakar får i seg for lite vatn, men naturleg varierer konsentrasjonen veldig lite.



Figur 2 Produksjon og samansetnad av mjølk gjennom laktasjonen. Frå Sjaastad et al. (2010)

### Feitt

Mjølkefeitt kan delast inn i førdanna feittsyrer og *de novo*-feittsyrer (Sjaastad et al. 2010). Dei to ulike typane feitt utgjer kvar om lag 50 % av det totale innhaldet av feitt i mjølk. Det opphavlege utgangspunktet for mjølkefeitt er feitt som drøvtyggjaren får i seg gjennom fôret. I vomma vert fôrfeittet, hovudsakleg  $\alpha$ -linolensyre, linolsyre og oljesyre, hydrolysert til frie feittsyrer og glyserol (Cheeke & Dierenfeld 2010). Meir enn 90 % av dei frie feittsyrene vert så metta ved

hydrogenering, som resulterer i at størstedelen av feittet forlèt vomma i form av stearinsyre (McDonald et al. 2011). På grunn av denne prosessen vil feittsamansetnaden i mjølk i liten grad spegle feittsamansetnaden i fôret.

Dei førdanna feittsyrene i mjølka kjem frå triglyserid som vert frakta via blodet som chylomikron eller VLDL (very low density lipoproteins) (Sjaastad et al. 2010). Når dei vert tekne opp over kapillærveggen og over til jurepitelet, vert triglyserida brotne ned til frie feittsyrer og glyserol av enzym i blodåreveggen. Inne i epitelcella vert dei re-esterifiserte med glyserol til triglyserid som så vert skilt ut i mjølka.

Den viktigaste kjelda til *de novo*-syntesen er eddiksyre frå fermenteringa i vomma, og  $\beta$ -hydroksybutyrat (BHBA) som vert danna i vomveggen under absorpsjon av smørsyre (Bauman & Griinari 2003). I motsetning er glukose via pyruvat som inngår i sitronsyresyklusen (TCA), det viktigaste substratet for feittsyntese i einmaga dyr. Sidan drøvtyggjarar manglar citrat-lyase som tillét glukose å gå inn i TCA, vert eddiksyre og BHBA via acetyl-CoA nytta som substrat for feittsyresyntese.

Eddiksyra vert aktivert til acetyl-CoA i cytoplasma, medan BHBA vert omdanna til acetyl-CoA i mitokondriane (Sjaastad et al. 2010). Elongeringa av feittsyrekjeden skjer ved at feittsyresyntase legg til acetyl-CoA, før syntesen vert avslutta ved nærværet av eit enzym som frigjer feittsyrene. Dette enzymet er spesielt for epitelcellene i juret, og frigjer feittsyrene på ulike stadium i elongeringsprosessen. Feittsyrer i mjølk har difor eit varierende tal karbonatom, og ein større del kortkjeda feittsyrer enn kroppsfeitt.

Feittsyrene er metta når dei går vidare frå elongeringa og inn i endoplasmatisk retikulum. Her vert dei desaturerte i større eller mindre grad, og dobbelbindingar oppstår. I endoplasmatisk retikulum skjer òg ei esterifisering av feittsyrene til triglyserid, som utgjer om lag 98% av mjølkefeittet. Feittet vert så skilt ut frå epitelcella som globulære formasjonar, og frakta ut i mjølkevæska i juralveolane.

Mjølk frå drøvtyggjarar skil seg frå mjølk frå einmaga dyr òg ved førekomsten av såkalla greina feittsyrer, eller feittsyrer med odde tal av karbonatom (Sjaastad et al. 2010). Desse feittsyrene finst berre i små mengder i mjølka, og vert produsert frå greina aminosyrer og propionsyre som har sitt opphav frå mikroorganismar i vomma.

## **Protein**

Dette avsnittet er basert på stoff frå Sjaastad et al. (2010).

Syntese av mjølkeprotein skjer på same måte som proteinsyntese i andre celler (Bequette et al. 1998), men produserer spesielle typar protein som stort sett ikkje finst utanfor mjølkekjertelen.

Mjølkeprotein vert vanlegvis klassifisert i fire ulike kategoriar:

- Kasein
- Laktalbumin og laktoglobulin
- Immunoglobulin
- Enzym

Epitelcellene i juret får tilført energi og aminosyrer til proteinsyntesen gjennom blod og ekstracellulær væske. Aminosyrene vert frakta til den granulerte endoplasmatiske retikulum, der dei vert bundne saman. Frå den granulerte endoplasmatiske retikulum går proteina vidare til Golgiapparatet, der dei vert prosesserte for transport ut av cella. Denne klargjeringsprosessen inneber formasjon av kaseinmiceller, binding av fosfatgrupper til enkelte protein og binding av glykogruupper til andre protein. Frå Golgiapparatet vert proteina frakta til apikalmembranen i cella via sekresjonsvesiklar, og vert så transportert ut i den ekstracellulære væska i alveolane ved hjelp av exocytose.

## **2.3 Fôringsrelaterte faktorer som påverkar tilførselen av substrat til juret, yting og kjemisk samansetnad av mjølka**

### **2.3.1 Energi- og proteintilføring**

Mjølkeproduksjon er ein sær sars energikrevjande prosess, og er difor i stor grad avhengig av tilstrekkeleg energitilføring gjennom fôret (Sjaastad et al. 2010). Auka mjølkeproduksjon som følgje av auka energitilføring er godt kjent og vist i fleire forsøk (Macleod et al. 1984; Ballard et al. 2001). Effekta er likevel avgrensa; fôrutnytting og produksjonseffekt er synt å avta kurvelineært med stigande fôrnivå (Kristensen, V. F. et al. 2003). Energitilføringa spelar òg inn på proteininnhaldet i mjølk, då ei låg tilføring vil kunne avgrense den energikrevjande proteinsyntesen (Hermansen et al. 2003).

Den kjemiske samansetnaden av fôret vil spele inn på den kjemiske samansetnaden av mjølka, ettersom ulike fôrsamansetnadar gjer ulike fermenteringsprodukt (Kristensen, V. F. et al. 2003). Eddiksyre og smørsyre vert i juret i hovudsak nytta til feittsyntesen, medan propionsyre vert

omdanna til glukose som vert nytta til syntese av laktose (Madsen & Nielsen 2003). Palmquist et al. (1993) synte òg i sin oversiktsartikkel at samansetnad av fôrfeittet til ei viss grad kan syne på samansetnaden av mjølkefeittet.

Òg proteintilføringa kan påverke mjølkemengda i positiv retning (Kalscheur et al. 1999; Wang et al. 2007). Proteininnhaldet i seg sjølv kan berre aukast i liten grad (Hermansen et al. 2003), men god tilgang på spesielt essensielle aminosyrer er naudsynt for å sikre ein tilfredsstillande proteinprosent utan at dyret må ta frå eigne kroppsreserve (Sjaastad et al. 2010).

Samspelet mellom energi og protein tilgjengeleg for mikrobane i vom er avgjerande for forsyninga av begge faktorane (McDonald et al. 2011). Viktigheita av samspelet er oppsummert og synt m.a. i oversiktartikkelen til Coulon og Rémond (1991), som konkluderte med at responsen på endra energitilføring måla i kg mjølk var avhengig av mengda protein tilført. Mikrobane treng energi til vedlikehald, som t.d. rørsle og aktiv transport, medan dei treng nedbrytbart protein til vekst og formeiring (Hvelplund et al. 2003). Er det eit misforhold mellom energi og protein som kan brytast ned i vomma, vil fordøyingsgrada i vom verte redusert.

### **2.3.2 Forholdstal mellom grovfôr og kraftfôr**

Drøvtyggjaren har behov for ei viss mengd celleveggstoff, eller fiber, i rasjonen for å sikre optimal vomfunksjon. Ei viss mengd fiber i rasjonen stimulerer spyttproduksjonen, og dermed òg tilføringa av buffer, som regulerer pH (Yang et al. 2001). Fiber tek òg lengre tid å bryte ned enn t.d. stive og sukker (Weisbjerg et al. 2003). Dersom mengda lettfordøyelege karbohydrat vert for høg i forhold til mengda fiber, vil ein i alvorlege tilfelle kunne få ein akkumulasjon av propionsyre og laktat, som vil føre til eit dropp i pH-verdi.

Dei lågare pH-verdiane som følgjer høge konsentrasjonar av flyktige feittsyrer i vom påverkar gjæringsmønsteret i vomma på fleire måtar (Kristensen, N. B. et al. 2003a). I ein normal situasjon med normal pH der grovfôr utgjer størsteparten av rasjonen, vil 50-70% av dei flyktige feittsyrene vere eddiksyre, 15-40 % propionsyre, medan smørsyre vil utgjere 5-20%. Ved pH under 6,0, derimot, trivst dei amylytiske bakteriane, og mengda propionsyre produsert aukar (Dijkstra et al. 2012). På same tid er pH-verdiar under 6,0-6,3 skadelege for cellulolytiske bakteriar, og fermenteringa av fiber vert redusert. Ein vil dermed få ei forskyving i gjæringsmønsteret frå eddiksyre til propionsyre (Sutton et al. 2003). Låge pH-verdiar kan òg føre til ei oppblomstring av mjølkesyrebakteriar og smørsyrebakteriar. Over tid kan låge pH-verdiar

ha fleire negative konsekvensar i vomma: redusert fordøyelegheit som følgje av redusert mikrobeaktivitet (Dijkstra et al. 2012), sur vom (Sjaastad et al. 2010), og som resultat av begge desse potensielt redusert mjølkeproduksjon (Wales et al. 2004), samt nedsett evne til absorpsjon i epitelvevet (Dijkstra et al. 2012).

Resultatet av eit lågare forholdstal mellom grovfôr og kraftfôr ((eddiksyre+smørsyre)/propionsyre) kan på andre sida vere positivt og syne seg som auka mjølkemengd på grunn av større tilføring av glukogent substrat (Prestløyken & Harstad 2001). Etter kvart vil det kunne resultere i feittdepresjon; ein sterk nedgang i feittinnhaldet i mjølk skulda den reduserte produksjonen av eddiksyre som er eit direkte følgje av redusert aktivitet i dei cellulolytiske bakteriane (Sjaastad et al. 2010).

### **2.3.3 Eigenskapar ved grovfôret**

Grovfôr utøver ein effekt på mjølkeproduksjon- og samansetnad først og fremst ved å påverke fôropptaket og næringstilføringa til dyret

Den viktigaste faktoren ved grovfôret er haustetidspunktet (Mo 2005). Næringsinnhaldet aukar fram mot skyting, og vert redusert etter skyting. Etter kvart som planten utviklar seg vil òg fordøyelegheita av næringsstoffa gå ned. Innhaldet av tørrstoff aukar kontinuerleg ettersom planten veks og utviklar meir celleveggstoff. Tørrstoffinnhaldet kan potensielt ha ein viss påverknad på fôrinntaket; meir vatn i fôret aukar fyllverdien og reduserer fôrinntaket og dermed næringstilføringa.

Fôrinntaket aukar t.d. med minkande kuttelengd (Mo 2005). Årsaka til dette er at lengre partiklar har ein høgare fyllverdi, samstundes som mikrobane treng lenger tid på å bryte dei ned til ein storleik der dei kan passere ut av vomma (Kristensen & Ingvarsen 2003). Fôropptak av surfôr vil òg kunne påverkast av gjæringsprosessen (Mo 2005). Ved feilgjæring kan surfôret utvikle ein sterk smak av t.d. smørsyre eller ammoniakk som dyra ikkje liker. Andre, mindre viktige faktorar er samansetnad av eng og innhald av kløver.

### **2.3.4 Eigenskapar ved kraftfôret**

Stive utgjer ein viktig kjemisk komponent i kraftfôr. I enkelte fôrslag, som mais, er ein del av stivet mindre tilgjengeleg for mikroorganismene i vomma (McDonald et al. 2011). Ved å nytte slike fôrslag, eller fôrslag som er kjemisk eller mekanisk behandla for å redusere

vomfordøyelegheita av stive kan ein forseinke produksjonen av flyktige feittsyrer i vomma, og minske variasjonen i vom-pH (Yang et al. 1997).

Som for grovfôr, kan partikkelstorleiken til kraftfôret påverke vommiljø og dermed fermenteringsprodukt (Yang et al. 2001). Ved å redusere partikkelstorleiken vert ein større del av overflata tilgjengeleg for mikrobane, som gjer at fermenteringa går fortare, og ein vil få ein raskare produksjon av flyktige feittsyrer (Nocek & Tamminga 1991).

### **2.3.5 Fôringsrutinar**

Kraftfôr har relativt stor evne til å påverke pH, ettersom det består av store mengder vomløyseleg karbohydrat, som raskt vert omdanna til FFS i vomma (McDonald et al. 2011). Ved stort inntak av vomløyselege karbohydrat vil produksjonen av FFS gå fortare enn diffusjonen ut frå vomma, og ein reduksjon i pH er uunngåeleg (Sjaastad et al. 2010). Utfordringa ligg i å gjere nedgangen i pH, og varigheita av denne, så liten som mogeleg.

Låge pH-verdiar, under 6,0-6,2, har ei toksisk effekt på dei cellulolytiske bakteriane, og fibernedbrytinga i vomma vert hemma (Kristensen, N. B. et al. 2003a). I tillegg til redusert fordøyelegheit av fiber ved låg pH i vomma, står dyret òg i fare for å utvikle acidose, eller sur vom (Nocek 1997). Acidose kan gje redusert mjølkemengd, vekttap, diaré, lamheit og i verste fall død.

Effekta av kraftfôrinntaket på pH i vom kan jamnast ut ved å fordele kraftfôrrasjonen utover fleire, mindre tildelingar dagleg (Bragg et al. 1986; Robinson & McQueen 1994). Ved å fordele kraftfôrrasjonen utover dagen får ein mindre variasjon i pH-verdiane gjennom dagen, og kortare periodar der verdiane ligg under det ein reknar for ynskja.

### **2.4 Resultat frå forsøk med tilskott av ekstra propionsyre i vomma**

Det har tidlegare vorte gjennomført forsøk der ein har ynskja å undersøke effekta av å auke mengda glukogent substrat tilgjengeleg for dyret. Dette har i somme tilfelle vorte gjort ved å tilsetje propionsyre direkte i vomma, og resultatata har vore varierende.

Rigout et al. (2003) undersøkte om tilsetjing av to forskjellige mengder propionsyre tilsett i vom hadde ein effekt på mjølkemengd- og samansetnad. Resultata synte at hovudeffekta av auka mengd glukogent substrat kunne sjåast på feittinnhald i mjølka; det vart tydeleg redusert. Desse resultatata vert støtta av resultatata frå Hurtaud et al. (1993) – deira forsøk som innebar å tilsetje



ekstra propionsyre i vomma gav signifikant lågare feittinnhald i mjølka. I begge forsøka vart òg feittsamansetnaden endra; spesielt på talet kortkjeda feittsyrrer, som vart redusert.

For mjølkemengd kunne både Hurtaud et al. (1993) og Rigout et al. (2003) vise til ei noko auka mjølkeyting når propionsyre vart tilført vomma. Lemosquet et al. (2009), derimot, fann ingen skilnad i mjølkeyting mellom dyr som var tilført propionsyre og dyr som vart tildelt berre kontrolldiett. Mengda mjølkeprotein vart ikkje påverka av behandlinga i forsøka til Hurtaud et al. (1993) og Lemosquet et al. (2009), men tenderte til å auke hjå Rigout et al. (2003).

Effekter på vommiljø vart òg undersøkt i dei tri forsøka, og resultatata for pH var varierende. Rigout et al. (2003) fann at tilsetjing av propionsyre i vomma reduserte pH, medan Hurtaud et al. (1993) og Lemosquet et al. (2009) ikkje fann noko effekt på pH i det heile. For FFS, derimot, var resultatata samstemte – alle forsøka synte ein endra samansetnad av den totale FFS-produksjonen ved tilsetjing av propionsyre. I alle tilfelle auka mengda propionsyre på kostnad av eddiksyre, altså vart eddiksyre/propionsyre-ratioen redusert.

Kva fôrinntak og fôreffektivitet angår synte resultatata til Rigout et al. (2003) eit høgare fôrinntak målt i kg TS ved tilføring av propionsyre, medan Hurtaud et al. (1993) og Lemosquet et al. (2009) kunne dokumentere ein liten reduksjon i tørrstoffinntak i forhold til dei andre behandlingane i forsøka. Lemosquet et al. (2004) fann at tilføring av propionsyre i vomma auka plasmakonsentrasjonen av glukogene aminosyrer, som moglegvis kan forklarast med at ei auka mengd glukogent substrat har ei sparande effekt på glukogene aminosyrer.

Det er vanskeleg å oppsummere resultatata for forsøk med tilsetjing av propionsyre i vom. Litteraturen gjer ikkje eintydige svar for denne behandlinga; for dei gjennomgåtte artiklane kunne to forsøk vise til at tilsetjing av propionsyre auka mjølkemengda, medan eitt ikkje fann signifikante skilnadar mellom behandlingar. Det same var tilfelle for mjølkeprotein; meir propionsyre kunne ha ein positiv effekt på mjølkeproteinet, eller ingen effekt i det heile. Konsentrasjonen av feitt ser det derimot ut til å vere litt meir semje om; alle inkluderte forsøk synte av tilsetjing av propionsyre reduserte mjølkefeittet. Fôropptak og pH vart vist å både syne ein negativ respons og ingen respons, og ingen klare konklusjonar kan trekkjast.

## 2.5 Resultat frå forsøk med tilsetjing av propionsyreproduserande bakteriar i vomma

Som for forsøka med tilsetjing av propionsyre i vomma er det òg ein del forsøk med tilsetjing av propionsyrebakteriar som har ein tydeleg negativ effekt på feittinnhaldet i mjølka (Stein et al. 2006; de Ondarza & Seymour 2008; Lehloenya et al. 2008). Det kan likevel sjå ut som effekta er avhengig av laktasjonsstadium (Francisco et al. 2002; de Ondarza & Seymour 2008; Weiss et al. 2008) og eventuelt laktasjonsnummer (Lehloenya et al. 2008). Forsøket til Lehloenya et al. (2008) innebar for øvrig tilføring av både gjær og propionsyrebakteriar i same behandling, så ei effekt av gjæren *per se* kan ikkje utelukkast.

Stein et al. (2006) og de Ondarza og Seymour (2008) synte ein positiv effekt av propionsyrebakteriar på mjølkeytinga, medan Francisco et al. (2002) og Weiss et al. (2008) ikkje kunne finne nokre effektar på mjølkeytinga, verken negative eller positive. Lehloenya et al. (2008) kunne vise til positive effektar av bakteriane i visse periodar av laktasjonen. Ingen av dei nemnte forsøka klarte å finne nokon signifikant effekt på produksjonen av mjølkeprotein, med unntak av Stein et al. (2006), som synte at kyr over første laktasjon hadde ein tendens til å produsere meir mjølkeprotein enn kontrollkyr.

Tilføring av propionsyrebakteriar reduserte pH i vom i forhold til kontrolldietten i forsøket til Stein et al. (2006). Ghorbani et al. (2002) utførte eit forsøk med tilføring av propionsyrebakteriar til oksar, men fann ingen effektar på pH i forhold til kontrolldietten, og heller ingen effekt på eddiksyre/propionsyre-ratioen i vom. Stein et al. (2006) og Weiss et al. (2008), derimot, fann ein lågare eddiksyre/propionsyre-ratio ved behandling med propionsyrebakteriar. I tillegg vart det i periodar funne ein auke i mengda smørsyre produsert i forsøka til både Ghorbani et al. (2002) og Stein et al. (2006).

Verken Francisco et al. (2002) eller Weiss et al. (2008) fann signifikante effektar på total mjølkemengd eller mjølkesamansetnad, men begge forsøka kunne dokumentere ein reduksjon i dagleg tørrstoffinntak. Ghorbani et al. (2002) fann ingen signifikante effektar på fôropptak mellom kontroll og behandling. Dei andre forsøka omtala i dette avsnittet omfatta ikkje fôropptak.

Som for forsøk med tilsetjing av propionsyre til vomma, syner litteraturen sprikande resultat for tilsetjing av levande propionsyrebakteriar. Majoriteten av forsøka som involverte bakteriar dokumenterte ei negativ effekt på mjølkefeitt, og at det var tendensar til at effekten varierte med varierende laktasjonsstadium. Effektane på mjølkeprotein var veldig små; berre eitt forsøk greidde å dokumentere ein signifikant skilnad mellom behandlingar, og det berre i enkelte delar av laktasjonen. Artikkane var delte i sine resultat for mjølkemengd; om lag halvparten registrerte ein positiv effekt av behandling, medan den andre halvparten ikkje registrerte nokon effekt i det heile. For vommiljø og fôropptak var det likeins. Heller ikkje for denne typen behandling kan ein trekkje nokon konklusjonar.

## 3.0 Eigne forsøk

### 3.1 Materiell og metode

#### 3.1.1 Gjennomføring av forsøket

To separate forsøk vart gjennomførte i Stoffskiftefjøsset ved Senter for husdyrforsøk (SHF), UMB (no NMBU), frå hhv. 24.08.2013 til 15.11.2013 og 04.10.2013 til 06.12.2013. Det vart gjennomført eit forsøk med intakte dyr (D170), og eit forsøk med vomfistulerte dyr (D171).

Årsaka til at det vart valt å gjennomføre to separate forsøk er at det i tidlegare forsøk er vist at fistulerte dyr kan ha ein viss lekkasje av gass frå vomma, som potensielt kan forstyrre resultata. Fistulerte dyr er likevel lettare å nytte i eit slikt forsøksopplegg som dette, då måling av viktige parametrar som fermenteringsmønster og pH i vom, er enklare å utføre på grunn av vomfistelen. I tillegg ville ein ha eit forsøk som berre baserte seg på yting og kjemisk samansetnad av mjølk, for å unngå eventuelle effektar av alle prøvane dei fistulerte dyra vart utsette for, derav av forsøket med intakte dyr. Forsøket var basert på ei kontrollgruppe og ein type behandling:

Kontroll: dyra fekk basaldietten og vart tilført vekstmedium utan propionsyrebakteriar

Behandling med propionsyrebakteriar (PS):dyra fekk basaldietten og vart tilført både vekstmedium og propionsyrebakteriar.

#### 3.1.2 Forsøksdyr

##### *D170*

Fem intakte mjølkekyr av rasen NRF vart nytta (tabell 1). I utgangspunktet skulle forsøket ha omfatta seks dyr, men den eine kua døydde like før forsøksstart. Alle dyr var i andre laktasjon, og var i tidleg laktasjon ved forsøksstart. Akkurat desse dyra vart valde ut for å få mest mogeleg likskap i laktasjonsnummer, laktasjonsstadium og mjølkeyting. Laktasjonsstadium vart uttrykt som dag i laktasjonen, eller DIM (days in milk).

**Tabell 1** Oversikt over dyra i D170. All informasjon er frå dagen for forsøksstart

<b>Ku nr.</b>	<b>Fødselsdato</b>	<b>Vekt, kg</b>	<b>Kalvingsdato</b>	<b>Laktasjonsnummer</b>	<b>DIM</b>
5714	06.09.2010	598	02.07.2013	2	53
5723	17.09.2010	533	18.06.2013	2	67
5725	20.09.2010	560	05.07.2013	2	50
5726	20.09.2010	586	27.06.2013	2	58
5734	09.10.2010	570	22.06.2013	2	63

### D171

Fire vomfistulerte mjølkekyr av rasen NRF vart nytta, og dei er presenterte i tabell 2. Alle fire dyr var i tidleg laktasjon, men dyra hadde hatt ulikt tal kalvingar. På same måte som i D171 vart dyra valt ut for å få minst moglege skilnad mellom dei. Informasjon om vekta til ku nr. 5589 manglar.

Tabell 2 Oversikt over dyra i D171. All informasjon er frå dagen for forsøksstart

Ku nr.	Fødselsdato	Vekt, kg	Kalvingsdato	Laktasjonsnummer	DIM
4772	09.01.2005	743	22.08.2013	5	43
5141	23.07.2007	610	14.08.2013	4	51
5589	24.09.2009	-	18.09.2013	3	16
5764	21.11.2010	587	21.08.2013	2	44

### 3.1.3 Forsøksdesign

#### D170

På grunn av praktisk utføring og eit avgrensa utval av passande dyr vart forsøket utført på få dyr. Eit «crossover-design» vart utforma, der dyra i utgangspunktet vart delt inn i 3 blokker med 2 kyr i kvar blokk. Ettersom den eine kua døydde før forsøket byrja, vart designet endra slik at den eine blokka innehaldt berre ei ku. Faktorar det vart blokka for var mjølkeyting og DIM. Blokkinga av dyr er synt i tabell 3. Innanfor blokkene vart behandlingane tilfeldig fordelt for dyr og periode.

Tabell 3 Fordeling av dyr i blokker

Blokk 1	Blokk 2	Blokk 3
5714, 5725	5726, 5734	5723

Forsøket gjekk over fire periodar. Kvar periode var delt inn i ein tilvenjingsperiode på 16 dagar, og ein forsøksperiode på fem dagar, samanlagt tri veker for kvar periode. Tidspunkta for dei fire periodane er synte i tabell 4.

Tabell 4 Dato for periodane, delt inn i tilvenjings- og forsøksperiode

Periode 1		Periode 2		Periode 3		Periode 4	
Tilvenjing	Forsøk	Tilvenjing	Forsøk	Tilvenjing	Forsøk	Tilvenjing	Forsøk
23.08-	09.09-	14.09-	30.09-	05.10-	21.10-	26.10-	11.11-
08.09	13.09	29.09	04.10	20.10	25.10	10.10	15.11

I første periode var dyr innanfor kvar behandling tilfeldig fordelt (tabell 5). I dei andre periodane vart fordelinga styrt slik at alle dyr gikk gjennom begge periodar to gonger, for å få mest mogeleg balanserte data.

**Tabell 5** Oversikt over behandling i dei ulike periodane

<b>Ku nr.</b>	<b>Periode 1</b>	<b>Periode 2</b>	<b>Periode 3</b>	<b>Periode 4</b>
5714	Kontroll	PS	PS	Kontroll
5723	Kontroll	PS	Kontroll	PS
5725	PS	Kontroll	Kontroll	PS
5726	Kontroll	Kontroll	PS	PS
5734	PS	PS	Kontroll	Kontroll

### **D171**

Av same årsaker som for D170 inkluderte òg D171 få dyr; fire fistulerte dyr vart nytta i dette forsøket. Eit «crossover-design» vart utforma, med to kyr i to ulike blokker. Fordelinga av dyra i dei to blokkene kan sjåast i tabell 6. Dyra vart blokka etter mjølkeyting og DIM. Behandling i dei ulike periodane vart fordelt tilfeldig innanfor blokkene. Behandlingane var dei same som i D170.

**Tabell 6** Fordeling av dyr i blokker

<b>Blokk 1</b>	<b>Blokk 2</b>
4772, 5589	5141, 5764

Forsøket gjekk over tre periodar, som var delte inn i ein tilvenjingsperiode på 12 dagar, og ein forsøksperiode på 9 dagar. Forsøksperioden var noko lenger for fistulerte dyr enn intakte dyr på grunn av fleire typar og meir tidkrevjande prøvar. Datoane for dei tre periodane kan sjåast i tabell 7.

**Tabell 7** Dato for periodane delt inn i tilvenjings- og forsøksperiode

<b>Periode 1</b>		<b>Periode 2</b>		<b>Periode 3</b>	
<b>Tilvenjing</b>	<b>Forsøk</b>	<b>Tilvenjing</b>	<b>Forsøk</b>	<b>Tilvenjing</b>	<b>Forsøk</b>
04.10-16.10	16.10-25.10	26.10-06.11	07.11-15.11	16.11-27.11	28.11-06.12

I første periode var dyr innanfor kvar behandling tilfeldig fordelt (tabell 8). I dei andre periodane vart fordelinga styrt slik at to av dyra gjekk gjennom kontroll to gonger, medan to av dyra gjekk gjennom PS to gonger. Dette vart gjort for å få mest mogeleg balanserte data.

**Tabell 8** Oversikt over behandling i dei ulike periodane

<b>Ku nr.</b>	<b>Periode 1</b>	<b>Periode 2</b>	<b>Periode 3</b>
4772	Kontroll	Kontroll	Behandling
5141	Behandling	Behandling	Kontroll
5589	Behandling	Kontroll	Kontroll
5764	Kontroll	Behandling	Behandling

### 3.1.4 Fôr

I begge forsøka fekk alle dyra ein basaldiett som besto av grassurfôr og kraftfôr. Rasjonen var berekna til å innehalde 60% grovfôr og 40% kraftfôr på tørrstoffbasis, og skulle dekkje dyra sine individuelle næringsbehov.

Surfôret som vart nytta i forsøket var første slått på Frydenhaug frå økologisk dyrka eng med høgt kløverinnhald. Enga vart sådd i 2010, og hausta første gong i 2011. Frøblandinga som var nytta innehalde 50% timotei, 20% engrapp, 20% engsvingel og 10% kvitkløver. Første slåtten, som vart nytta i dette forsøket, var 18.06.2013. Surfôret vart pressa til rundballar.

Det vart nytta FORMEL Energi Basis 80 frå Felleskjøpet vart nytta gjennom heile forsøket. Kraftfôr for alle forsøksperiodane vart kjøpt inn samtidig, for å unngå endringar i komposisjonen. Dei råvarene som er tilsett kraftfôret i størst mengd er presenterte i tabell 9. Dei resterande komponentane er ulike mineral- og vitamintilskott.

Tabell 9 Råvaresamansetnad av kraftfôret

Ingrediensar	%
Byggrøpp	44,54
Rapsmjøl	15,25
Soyamjøl	10,89
Kveitekli	6,42
Melasse, sukkerøyr	6,04
Kveite	5,94
Akofeed nøt	2,97
Maisgluten	1,98
Fôrkalk	1,22
Erteravsikt	0,99
Soyaolje	0,79
Sum	97,03

Den kjemiske samansetnaden av kraftfôret oppgitt av leverandøren er presentert i tabell 10.

Tabell 10 Kjemisk samansetnad av kraftfôret. TS = tørrstoff, NDF = neutral detergent fiber, AAT = aminosyrer absorbert i tarmen, PBV = proteinbalanse i vom, FEm = fôreiningar mjølk.

Tørrstoff g/kg	Oske	Protein	NDF	Feitt g/kg TS	Stive	AAT	PBV	FEm FEm/kg TS
87,62	77,61	205,40	171,76	67,20	354,37	134,67	5,98	118,6

### Fôringsnivå og fôringsrutinar

Dei fire siste dagane av tilvenjingsperioden og gjennom forsøksperioden vart den totale rasjonen avgrensa til å tilsvare 90% av det gjennomsnittlege inntaket frå dag 1 til dag 8. Frå dag 1 til dag 8 fekk dyra tildelt ei mengd kraftfôr som vart tilpassa surfôropptaket. Denne mengda tilsvarte tilnærma lik 40% kraftfôr på tørrstoffbasis. Grovfôr vart tildelt *ad libitum*. Med *ad libitum* meinast ei så høg tildeling av fôr at det er minst 10% restar dagleg. Denne gjennomføringa vart valt for å redusere fôrrestar og for å halde grovfôr:kraftfôr-forholdet så stabilt som mogeleg gjennom forsøksperioden.



Frå dag 9 i tilvenjingsperioden fekk dyra ein rasjon basert på det frivillige grovfôropptaket dei 8 føregåande dagane. Gjennom resten av forsøksperioden var denne rasjonen låst.

Fôret vart tildelt tri gonger dagleg; 07.15, 14.00 og 22.00. Frå dag 9, når rasjonen vart låst, vart fôret tildelt i like store mengder pr. måltid. Eventuelle restar vart registrerte kl.07.00 kvar morgon.

### 3.1.5 Preparering av løysing for infusjon

Propionsyrebakteriar, frå familien *Propionibacteriaceae*, vart nytta i dette forsøket. Denne stammen vart valt ut fordi den hadde dei mest lovande resultatata i *in vitro*-forsøk der metan, flyktige fettstoffer og fordøyelegheit vart målt. *In vitro*-forsøket var ein del av doktorgraden som òg omfatta D170 og D171. Bakterieløysinga vart preparert i laben ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitskap (IKBM) ved UMB (no NMBU). Bakteriane vart kultivert anaerobisk ved 37°C, og helt over på plastbeger med skrukork. I begera vart det tilsett eit natriumlaktat-medium (sodium lactate broth – SLB), som innehaldt mellom anna små peptid og gjærekstrakt. Vekstmediet var preparert på same lab som bakteriane. Planlagt mengd bakteriar var  $5-8 \times 10^{11}$  cfu (colony forming units) pr. dyr dagleg gjennom ei løysing på 0,5 l. Mengda bakteriar for tilføring vart bestemt på grunnlag av tidlegare studie.

### 3.1.6 Tilføring av propionsyrebakteriar

#### *D170*

Levande propionsyrebakteriar vart tilført dyra ein gong dagleg, kl.14.00, *per os*. Kua sitt hovud vart fiksert, og løysinga vart tilført gjennom ein sonde som vart plassert i munnhole/svelg. Kvar infusjon tok mellom 1 og 2 minutt. Kontrolldyra gjekk gjennom same prosedyren, men vart tilført ei løysing utan bakteriar. Dette vart gjort for å få minst mogeleg skilnad mellom behandlingar.

#### *D171*

Levande propionsyrebakteriar vart tilført dyra ein gong dagleg, kl.14.00, gjennom vomfistelen. Løysinga vart helt inn i vomma ved hjelp av ein kolbe. Kontrolldyra fekk tilført kontrollvæska på same måte.

### 3.1.7 Prøvar og analysar

Alle analysar av fôr vart gjennomførte ved Eurofins sitt laboratorium i Moss, medan analysar av vomvæska vart gjennomførte ved TINE FOU sitt laboratorium i Stavanger.

Mjølkeanalysar vart gjennomførte ved Tine sitt laboratorium i Brumunddal.

Datoane for dei ulike prøvetakingane i D171 er synte i tabell 11. Berre datoane for D171 er presentert fordi prøvetakinga i det forsøket var meir omfattande enn i D170. I D170 vart berre fôropptak og mjølkeyting registrert, i tillegg til uttak av mjølkeprøvar til kjemisk analyse. Registrering av mjølkeyting og fôropptak vart gjort på same måte i begge forsøka, men mjølkeprøvane vart tekne på forskjellige dagar. I D170 vart mjølkeprøvane tekne frå dag 17 til dag 21, medan det var uttak frå dag 12 til dag 16 i D171. Årsaka til dette var at gjødseloppsamling i tidlegare tilfelle har hatt negativt utslag på mjølkeproduksjonen. Mjølkeprøvane vart difor teke før gjødseloppsamlinga vart gjennomført i D171 for å unngå ein eventuell påverknad av denne.

**Tabell 11 Oversikt over prøveuttak i D171**

Dag	Mjølkeyting	Mjølkeprøvar	Fôr	Gjødsel og urin	Vomvæske
1-11	X		X		
12	X	X	X		
13	X	X	X		
14	X	X	X		X
15	X	X	X		
16	X	X	X		X
17	X		X		
18	X		X	X	
19	X		X	X	
20	X		X	X	
21	X		X	X	

### **Fôr**

I begge forsøka vart grovfôrprøvar vart frosne ned dagleg, og samla i ein representativ prøve for heile veka. Vekeprøvane vart analyserte for tørrstoffinnhald for å kunne bestemme inntaket av tørrstoff for kvar enkelt veke. Prøvane frå veke 2 og 3 i kvar periode vart samla til ein representativ prøve for kvar periode, som gjekk gjennom standard prosedyre før analyse av tørrstoff, oske, råprotein, råfeitt, vassløyselege karbohydrat og neutral detergent fiber (NDF).

Av kraftfôret vart det teke ut ein representativ prøve dagleg, som vart lagra på glas. Dette vart gjort i begge forsøka. Prøvane frå veke 2 og 3 vart samla til ein representativ prøve som gjekk gjennom standard prosedyre før analyse. Det vart analysert for tørrstoff, oske, råprotein, råfeitt, stive og NDF.

### *Vomvæske*

Vomprøvar vart tekne berre av dei fistulerte dyra av praktiske årsakar. Prøvar av vomvæska vart tekne ut på dag 14 og 16 i kvar periode, klokka 07.00 (før fôring), 07.30 (rett etter fôring), 08.00, 09.00, 10.00, 12.00, 14.00 (før fôring), 14.30 (rett etter fôring), 15.00, 16.00, 17.00, 19.00 og 21.00. For å ta ut prøvar av vomvæske gjennom vomfistelen vart det nytta to slangar kopla til ein tett kolbe, og vomvæska vart sogt opp ved hjelp av undertrykk. Direkte etter oppsamling vart pH-verdi målt ved hjelp av eit pH-meter. 9,5 ml av kvar prøve vart overført til reagenglas som innehaldt 0,5 ml 100% HCOOH. Etter måling av pH vart prøvane lagra ved -20°C før dei etter avslutning av forsøket vart analysert for VFA og NH<sub>3</sub>-N.

### *Mjølke*

I begge forsøka vart kyrne mjølka to gonger dagleg; kl. 07.30 og 19.00, og ytinga vart registrert ved kvar mjølkning. Over fire dagar vart ei prosentvis lik mengde morgonmjølk og kveldsmjølk fylt på ei plastflaske. Dag 20 vart 40 ml av denne samleprøva teke ut, og helt på plastbeger frå Husdyrkontrollen som innehaldt ein Bronopol-tablett. Prøvane vart analyserte for feitt, protein, laktose, urea, frie feittsyrer (FFA) og celletal hjå TINE. Tri reserveprøvar på 10 ml vart lagra ved -20°C utan Bronopol.

## **3.1.8 Berekingar**

### Energikorrigert mjølk (EKM)

$$\text{Kilo EKM} = m * (0,01 + (0,122 * f) + (0,077 * p) + (0,053 * l)), \quad \text{Formel 1}$$

m = mjølkemengd, kg

f = feitt, %

p = protein, %

l = laktose, %

Formel frå Ekern (1991).

Alle andre verdiar nytta i resultatane, dvs. fôropptak, mjølkeyting, pH og flyktige feittsyrer, er baserte på gjennomsnitt av observasjonane for den aktuelle behandlinga.

### 3.1.9 Statistiske analysar

Data vart analyserte ved bruk av ein blanda modell i prosedyren MIXED i SAS. Dette vart gjort for å redusere eventuelle effektar av ku og periode i tillegg til behandling. Modellen var  $y_i =$  behandling + førebehandling + behandling\*førebehandling + dag + ku + forsøk\*periode + rest.

$Y_i$  var dei ulike responsvariablane ein forventar skulle verte påverka av behandling, t.d. mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølka. Dei faste effektane som vart inkluderte i modellen var behandling, førebehandling og samspelet mellom desse to. Behandling var delt inn i to nivå; propionsyrebehandling og kontroll, og forklarte behandlinga som dyret fekk i den aktuelle perioden. Førebehandling var bygd opp av tri nivå; ingen førebehandling, som var tilfelle for alle observasjonar i den første perioden, i tillegg til førebehandling med propionsyrebakteriar og førebehandling med kontroll. Med førebehandling meinast behandlinga i periode før den aktuelle perioden, og vart inkludert i modellen for å oppdage eventuelle cross over-effektar. Dag i laktasjonen vart teke inn som ein fast regresjon.

Mengd kraftfôr ete kvar dag vart ikkje teke med i dei statistiske analysane, då det ikkje vart tildelt etter appetitt, og det aldri vart registrert restar. Eventuelle signifikant skilnadar mellom dyr ville difor ikkje kunne forklarast som ein effekt av behandling eller førebehandling.

Ku og samspelet mellom forsøk og periode vart behandla som tilfeldige effektar. Fordi periodane hadde same nummer i begge forsøka, vart samspel mellom forsøk og periode lagt inn som ein eigen variabel, for å skilje mellom og behandla alle periodar separat.

Metoden "restricted maximum likelihood" vart nytta for å estimere varianskomponentane, medan skilnadar mellom gjennomsnittsverdiar vart testa ved å nytte t-testar. Effektar vart rekna som signifikante ved  $p < 0,05$ , medan  $p < 0,1$  vart rekna som tendensar, og merka i tabellar med høvesvis to stjerner (\*\*) og ei stjerne (\*).

## 3.2 Resultat

### 3.2.1 Fôr

Kjemisk samansetnad av surfôret er presentert i tabell 12. Det var generelt lite variasjon mellom innhaldet av dei kjemiske komponentane gjennom forsøksperiodane, med unntak av vassløselege karbohydrat (WSC). Denne varierte mellom 69 g/kg TS til over 130 g/kg TS.

Tabell 12 Innhald av tørrstoff (g/kg) og kjemisk samansetnad (g/kg TS), surfôr.

Dato brukt	Tørrstoff	Oske	Råprotein	NDF	Råfeitt	WSC
23/08-13/09	905	67,4	101,4	542,4	24,6	103,2
14/09-04/10	903	59,8	108,5	592,0	26,2	68,9
05/10-25/10	906	60,7	97,5	581,7	29,5	78,1
26/10-15/11	898	57,9	98,9	552,3	23,7	132,3
16/11-06/12	904	55,3	92,3	598,5	22,5	104,0

I tabell 13 er den kjemiske samansetnaden av kraftfôret presentert. Analysane av feitt i kraftfôr var mislykka, då det var ein del botnfall i nesten alle prøvane. Verdiane som er synte i tabellen under er difor ikkje heilt pålitelege, og syner òg ganske stor variasjon. Elles var den kjemiske samansetnaden av kraftfôret stabil gjennom alle forsøksperiodane.

Tabell 13 Innhald av tørrstoff (g/kg) og kjemisk samansetnad (g/kg TS), kraftfôr.

Dato brukt	Tørrstoff	Oske	Råprotein	NDF	Råfeitt	Stive
23/08-13/09	955	78,5	213,4	156,0	65,9	322,5
14/09-04/10	956	74,3	208,9	152,7	51,9	329,5
05/10-25/10	957	73,1	210,9	158,8	49,2	329,2
26/10-15/11	956	72,2	214,6	159,0	57,3	313,8
16/11-06/12	954	71,3	209,3	156,2	49,8	295,6

### 3.2.2 Fôropptak

Tabell 14 syner fôropptaket i begge forsøka, samt dei to slått saman. Fôropptak målt i kg TS totalt i rasjonen og målt i kg TS surfôr vart inkluderte i dei statistiske analysane. I alle tri analysar fekk ein signifikante skilnadar for alle variablar. Resultata synte gjennomgåande at begge verdiane for fôropptak var noko lågare når dyra på PS.

Tabell 14 Effekt av behandling på fôropptak for alle forsøk

Variabel	Behandling		Standardfeil	p-verdi
	PS	Kontroll		
D170				
Fôropptak, kg TS/dag	16,41	16,64	0,096	<0,01**
Surfôropptak, kg				
TS/dag	9,68	9,85	0,081	0,046**
D171				
Fôropptak, kg TS/dag	18,46	18,80	0,031	<0,01**
Surfôropptak, kg				
TS/dag	11,10	11,32	0,035	<0,01**
D170+D171				
Fôropptak, kg TS/dag	17,20	17,53	0,030	<0,01**
Surfôropptak, kg				
TS/dag	10,21	10,44	0,050	<0,01**

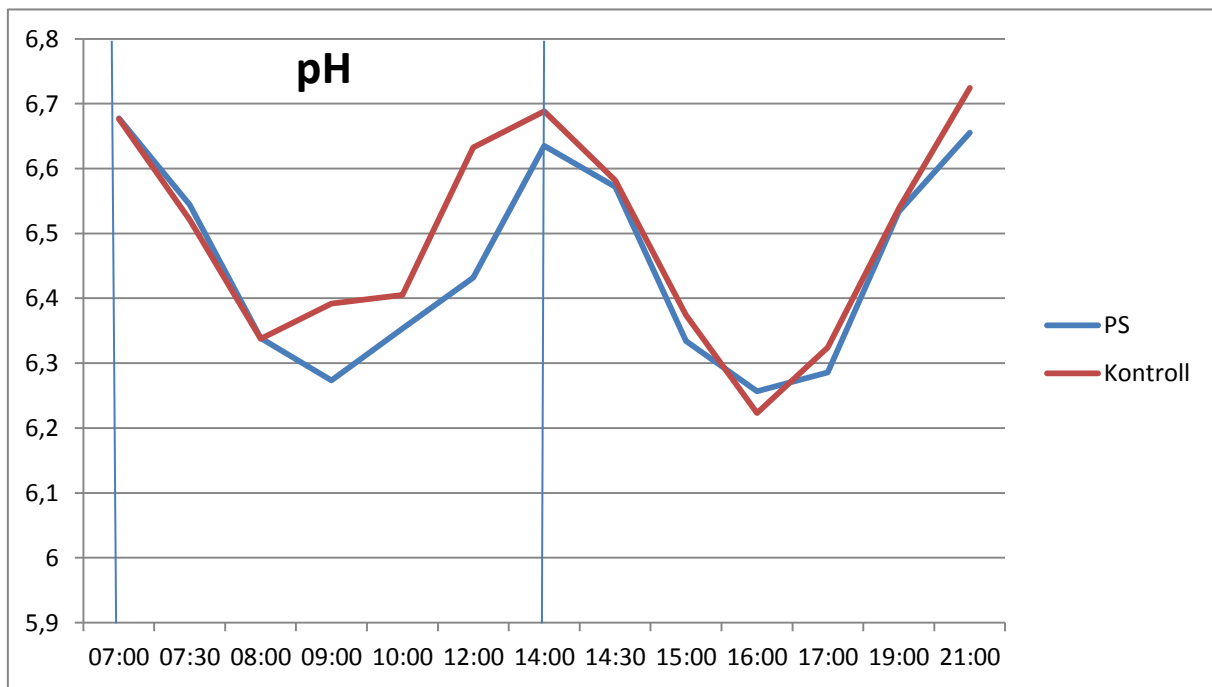
Ein såg signifikante skilnadar av førebehandling på begge måla for fôropptak både i D170 og D171, men ikkje i det samanslåtte datasettet (tabell 15). I D170 synte resultatata at fôropptaket var signifikant høgare når ingen førebehandling hadde vorte gjennomført. I D171 var det totale fôropptak signifikant høgare for førebehandling kontroll enn for PS. Førebehandling «ingen» skilte seg ikkje signifikant frå nokon av dei to.

Tabell 15 Effekt av førebehandling på fôropptak for alle forsøk. Ulike bokstavar i oppheva skrift syner signifikant skilnad mellom førebehandlingar.

Variabel	Førebehandling			p-verdi
	Ingen	PS	Kont.	
D170				
Fôropptak, kg TS/dag	17,13 <sup>a</sup>	16,29 <sup>b</sup>	16,16 <sup>b</sup>	<0,01**
Surfôropptak, kg				
TS/dag	10,30 <sup>a</sup>	9,55 <sup>b</sup>	9,44 <sup>b</sup>	<0,01**
D171				
Fôropptak, kg TS/dag	18,68 <sup>ab</sup>	18,40 <sup>a</sup>	18,81 <sup>b</sup>	<0,01**
Surfôropptak, kg				
TS/dag	11,32	11,05	11,25	0,023*
D170+D171				
Fôropptak, kg TS/dag	16,98	17,53	17,60	0,563
Surfôropptak, kg				
TS/dag	10,13	10,42	10,42	0,923

### 3.2.3 Vom-pH og gjæringsmønster

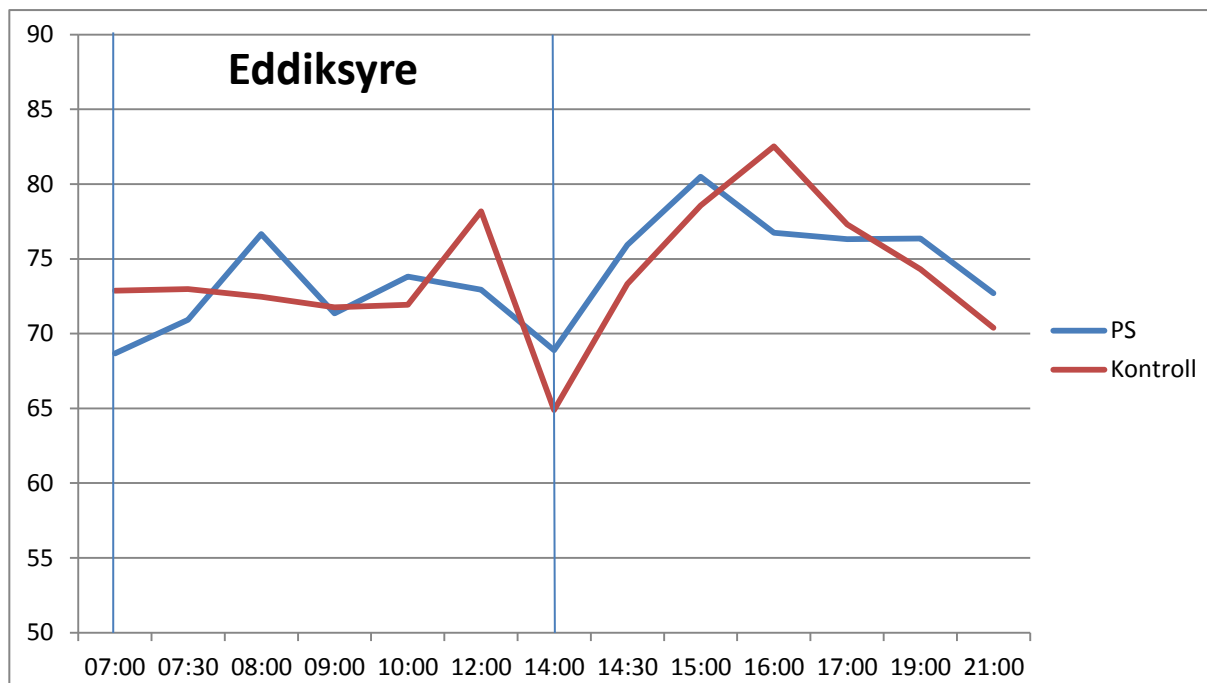
pH-verdiane frå ulike målingar og periodar vart lagde saman for å danne eit representativt gjennomsnitt for høvesvis PS og kontroll. Grafen i figur 3 syner korleis pH i vom endrar seg gjennom døgnet. Etter første fôring kl.07.00 ser ein eit tydeleg fall i pH. Kontrolldyra når lågaste pH-verdi ein time etter fôring, medan pH i vomma til dyra på PS fortset å falle ein time lenger, og når lågaste verdi kl.09.00. Botnpunktet er òg lågare for dyra på PS. Fram mot andre fôring kl.14.00 ligg vom-pH for PS lågare enn vom-pH for kontroll på alle målingar. Etter andre fôring får ein eit nytt dropp i pH, og skilnadane mellom behandlingar er minimale. Ein ser likevel ein tendens til at vom-pH i kontrolldyra er noko høgare enn i dyra på PS utover kvelden.



Figur 3 Variasjon i pH i vom mellom kl.07.00 og 21.00, synt i mmol/l. Fôringane er markerte med vertikale linjer

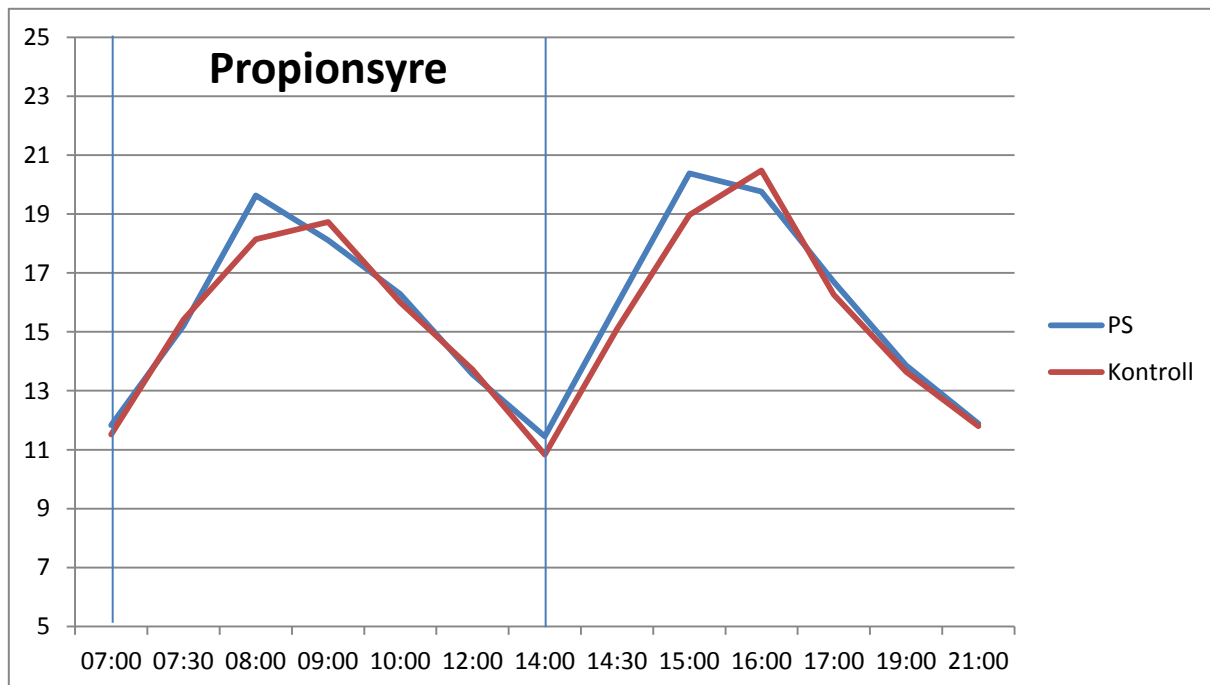
Innhaldet av eddiksyre auka noko i tida etter første fôring for begge behandlingar, og nådde eit botnpunkt kl.14.00 (figur 4). Kontrolldyr hadde eit lågare botnpunkt enn dyra på PS. Etter fôring kl. 14.00 nådde PS-dyra den høgaste konsentrasjonen av eddiksyre kl.15.00, medan kontrolldyra hadde den høgaste konsentrasjonen kl.16.00. Etter høgaste konsentrasjon var nådd, fall konsentrasjonen utover kvelden; noko raskare for kontrolldyr.





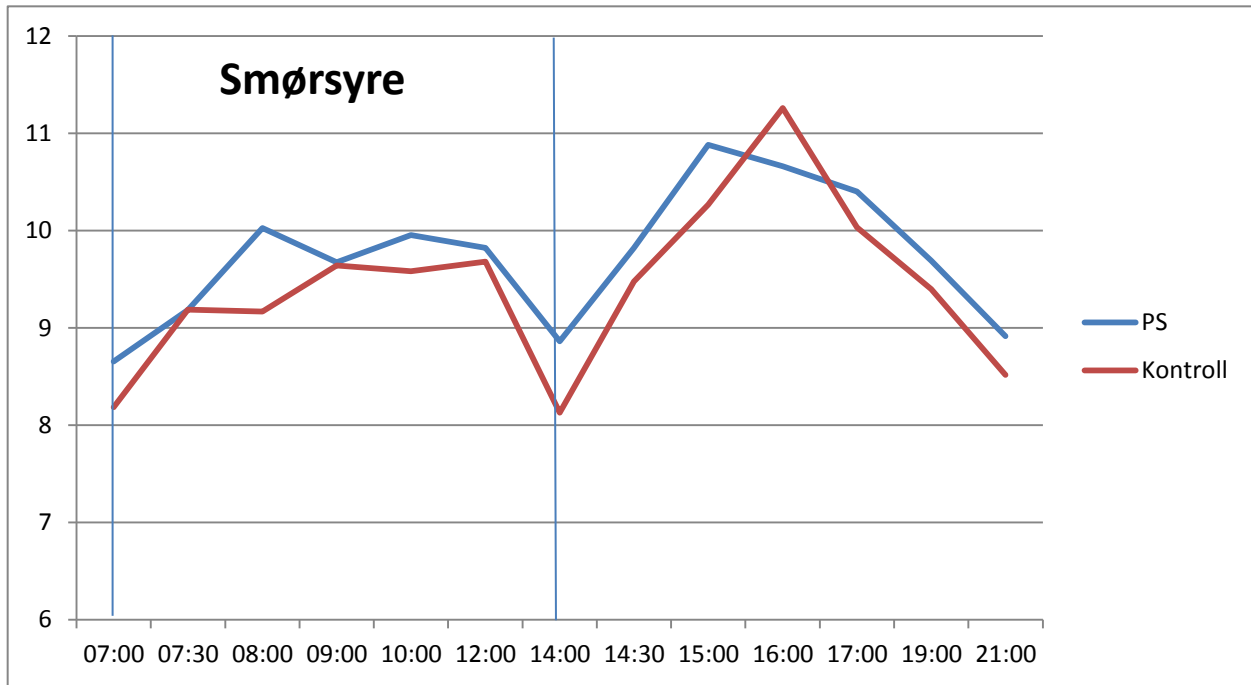
Figur 4 Variasjon i mengde eddiksyre i vom mellom kl.07.00 og 21.00, synt i mmol/l. Fôringane er markerte med vertikale linjer

Konsentrasjonen av propionsyre i vomma gjennom døgnet er synt i figur 5. Verdiane for begge behandlingar følgde eit veldig tydeleg mønster, der mengda propionsyre i vomma auka kraftig rett etter begge fôringar, med ein påfølgjande rask reduksjon i konsentrasjonen. Verdiane var relativt like for begge behandlingar, men dyra på PS nådde ein topp tidlegare etter begge fôringar enn kontrolldyra gjorde.



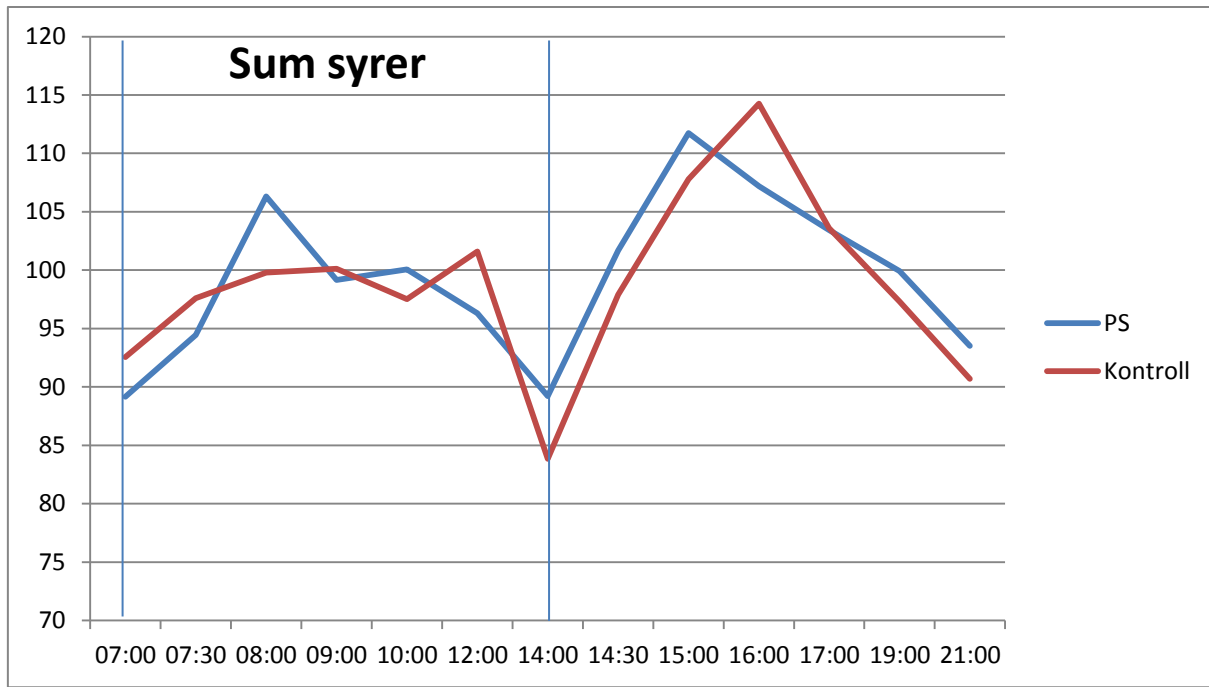
Figur 5 Variasjon i mengd propionsyre i vom mellom kl.07.00 og 21.00, synt i mmol/l. Fôringane er markerte med vertikale linjer

Konsentrasjonen av smørsyre i vom auka etter fôring kl.07.00 for begge behandlingar (figur 6). Ingen av behandlingane synte eit tydeleg toppunkt før konsentrasjonen gjekk ned mot andre fôringa kl.14.00. Kontrolldyra hadde eit noko lågare botnpunkt enn PS-dyra. Etter andre fôring synte begge behandlingar ein høgare konsentrasjon av smørsyre enn etter første fôring. Dyra som fekk PS hadde den høgaste konsentrasjonen gjennom døgnet ein time etter andre fôring, medan kontrolldyra nådde eit toppunkt to timar etter fôring. Utover kvelden var konsentrasjonen for kontrolldyra noko lågare enn for dyra som fekk propionsyrebakteriar.



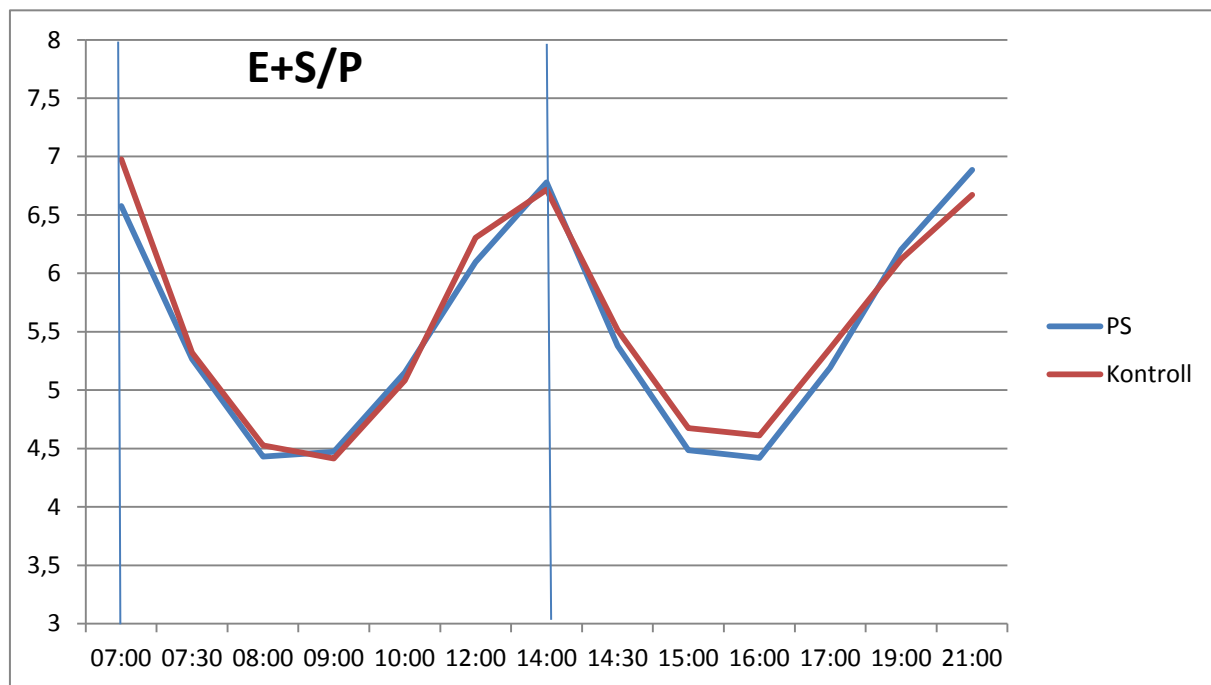
Figur 6 Variasjon i mengd smørsyre i vom mellom kl.07.00 og 21.00, synt i mmol/l. Fôringane er markerte med vertikale linjer

Den totale konsentrasjonen av syrer i vomma auka etter fôringar for begge behandlingar, der konsentrasjonen generelt var noko høgare etter andre fôring (figur 7). Kontrolldyra hadde, spesielt etter andre fôring, ein lågare total konsentrasjon av syrer enn dyra som fekk PS. Som for konsentrasjonen av propionsyre, nådde kontrolldyra høgaste konsentrasjon av smørsyre ein time seinare enn dyra som fekk propionsyrebakteriar.



Figur 7 Variasjon i mengd syrer totalt i vom mellom kl.07.00 og 21.00, synt i mmol/l. Fôringane er markerte med vertikale linjer

I figur 8 er den daglege variasjonen i eddiksyre+smørsyre/propionsyre (E+S/P) presentert for dei to behandlingane. Ein ser at PS og kontroll er tilnærma lik identiske, med skilnad i verdiar berre på desimalnivå. Forholdstalet mellom dei tri syrene fell gradvis dei 1-2 første timane etter fôring, før det stig igjen og når ein topp før andre fôring kl. 14. Etter den andre fôringa følgjer ratioen mellom syrene det same mønsteret som etter første fôring.



Figur 8 Variasjon i tilgjenget av substrat gjennom døgnet, uttrykt som (eddiksyre+smørsyre)/propionsyre. Fôringane er merkte med vertikale linjer

### 3.2.4 Mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølka

Resultata for mjølkemengda og den kjemiske samansetnaden av mjølka er synt i tabell 16. Kg mjølk pr. dag er signifikant forskjellig mellom behandlingar for både intakte og fistulerte dyr, men ikkje når begge forsøka vart behandla saman. I D170 mjølkar dyra som får propionsyrebakteriar litt mindre enn kontrolldyra, medan det er omvendt i D171. Kg EKM pr. dag tenderar òg til å vere lågare for PS i D170. I dei to andre analysane var det ingen effekt av behandling på kg EKM/dag.

Signifikansen for kjemisk samansetnad av mjølk varierte noko mellom forsøka (tabell 16). I D170 såg ein tendensar til at PS resulterte i lågare proteinprosent og høgare laktosekonsentrasjon. D171 hadde ingen utslag på nokon av dei kjemiske variablane. Når dei to forsøka vart slått saman til eitt datasett, tenderte mengda FFS å vere lågare for dyr som vart gjevne propionsyrebakteriar, men elles såg ein ingen effekt på den kjemisk samansetnaden.

Tabell 16 Effekt av behandling på mjølkemengd og kjemisk samansetnad for alle forsøk

Variabel	Behandling		Standardfeil	p-verdi
	PS	Kontroll		
D170				
Mjølkk, kg/dag	24,53	25,08	0,544	<0,01**
EKM, kg/dag	24,18	24,82	0,305	0,068*
Feitt, %	3,93	3,90	0,045	0,484
Protein, %	3,11	3,14	0,013	0,063*
Laktose, %	4,69	4,66	0,012	0,053*
Urea, mmol/l	3,90	3,87	0,102	0,350
FFS, mmol/ml	0,77	0,83	0,087	0,419
Celletal, 1000/ml	47,45	42,15	5,123	0,331
D171				
Mjølkk, kg/dag	31,66	30,56	0,379	<0,01**
EKM, kg/dag	31,53	31,83	0,286	0,458
Feitt, %	4,10	4,34	0,286	0,485
Protein, %	3,06	3,16	0,076	0,307
Laktose, %	4,76	4,78	0,064	0,839
Urea, mmol/l	3,29	3,32	0,308	0,934
FFS, mmol/ml	0,51	0,84	0,210	0,265
Celletal, 1000/ml	125,22	119,78	37,12	0,897
D170+D171				
Mjølkk, kg/dag	29,79	29,69	0,207	0,613
EKM, kg/dag	27,42	27,84	0,543	0,455
Feitt, %	4,04	4,07	0,104	0,795
Protein, %	3,10	3,15	0,033	0,191
Laktose, %	4,72	4,71	0,021	0,524
Urea, mmol/l	3,55	3,53	0,117	0,836
FFS, mmol/ml	0,65	0,83	0,086	0,061*
Celletal, 1000/ml	81,31	74,59	17,56	0,707

Effektane av førebehandling på yting og kjemisk samansetnad av mjølk kan sjåast i tabell 17. Kg mjølk pr. dag var signifikant forskjellig mellom førebehandlingar i D170 og D171, men ikkje når dei to forsøka vart kombinert i eitt datasett. I D170 var mjølkemengda signifikant lågare når dyra ikkje hadde fått nokon førebehandling. Resultata for D171 synte at dyr som hadde fått PS som førebehandling produserte signifikant meir mjølk enn dei to andre førebehandlingane.

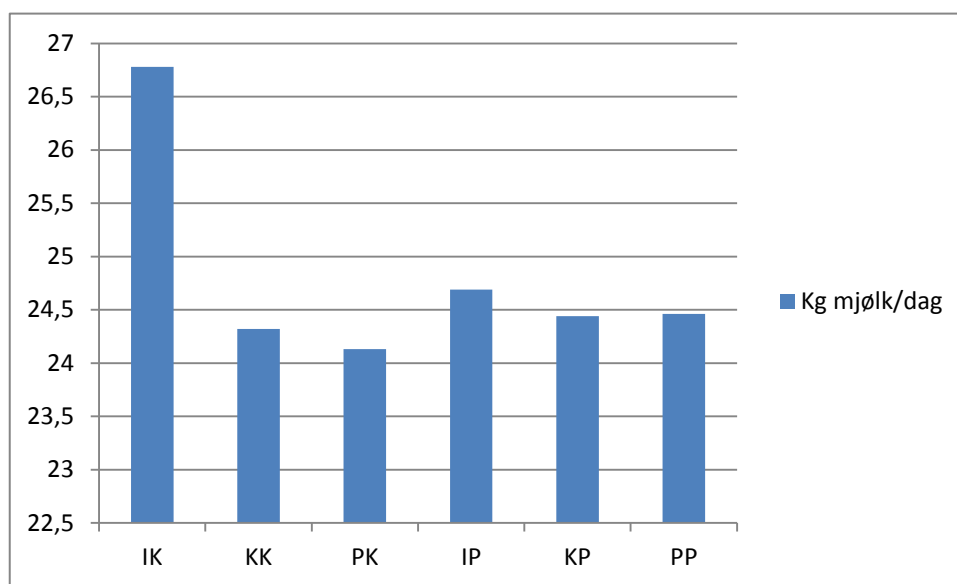
For dei kjemiske variablane fann ein berre skilnadar berre mellom førebehandlingar for D170 (tabell 17). Prosent protein var signifikant lågare med PS som førebehandling, medan laktosekonsentrasjonen var høgare ved ingen førebehandling.

Tabell 17 Effekt av førebehandling på mjølkemengd og kjemisk samansetnad for alle forsøk. Ulike bokstavar i oppheva skrift syner signifikant skilnad mellom førebehandlingar.

Variabel	Førebehandling			p-verdi
	Ingen	PS	Kont.	
D170				
Mjølkk, kg/dag	25,73 <sup>a</sup>	24,29 <sup>b</sup>	24,38 <sup>b</sup>	<0,01**
EKM, kg/dag	23,84	24,85	24,81	0,689
Feitt, %	3,750	3,995	3,982	0,526
Protein, %	3,116 <sup>a</sup>	3,144 <sup>a</sup>	3,105 <sup>b</sup>	0,092*
Laktose, %	4,723 <sup>a</sup>	4,658 <sup>b</sup>	4,655 <sup>b</sup>	0,036**
Urea, mmol/l	5,081	3,368	3,210	0,350
FFS, mmol/ml	0,397	1,033	0,960	0,419
Celletal, 1000/ml	40,50	49,12	44,77	0,605
D171				
Mjølkk, kg/dag	30,07 <sup>a</sup>	32,42 <sup>b</sup>	30,83 <sup>a</sup>	<0,01**
EKM, kg/dag	32,71	33,07	29,26	0,331
Feitt, %	4,649	4,140	3,868	0,397
Protein, %	3,167	3,171	2,987	0,388
Laktose, %	4,759	4,792	4,754	0,892
Urea, mmol/l	3,168	3,612	3,133	0,538
FFS, mmol/ml	0,188	0,956	0,881	0,275
Celletal, 1000/ml	123,2	170,1	74,23	0,303
D170+D171				
Mjølkk, kg/dag	29,95	29,77	29,50	0,565
EKM, kg/dag	27,38	28,20	27,31	0,436
Feitt, %	4,058	4,135	3,960	0,419
Protein, %	3,130	3,154	3,089	0,298
Laktose, %	4,726	4,725	4,691	0,421
Urea, mmol/l	3,317	3,816	3,493	0,101
FFS, mmol/ml	0,407	0,949	0,860	0,163
Celletal, 1000/ml	59,79	109,8	64,21	0,104



Ettersom dei statistiske analysane av mjølkemengder både frå D170 og frå dei to forsøka behandla saman synte at det var ein effekt av samspelet mellom førebehandling og behandling, er dei aktuelle resultatata for D170 presenterte i figur 9. Resultata for analysen av D170 og D171 samla vart ekskludert, sidan dei berre er eit gjennomsnitt av dei to individuelle forsøka. Ein kan tydeleg sjå skilnadar mellom behandlingar i dagleg, gjennomsnittleg mjølkeproduksjon, og kombinasjonen ingen førebehandling og kontroll som hovudbehandling (IK) skil seg klart ut. Denne kombinasjonen av behandlingar produserte i gjennomsnitt over 2 kg meir mjølk pr. dag enn den lågaste gjennomsnittet, PK. IK var òg det einaste samspelet som skilte seg ut statistisk.



**Figur 9** Effekt av samspel mellom førebehandling og behandling på kg mjølk pr.dag. I=ingen, K= kontroll, P=propion. Den første bokstaven indikerer førebehandling, den andre bokstaven indikerer hovudbehandling.

### 3.2.5 Fôreffektivitet

I tabell 18 er verdiane for fôreffektiviteten presenterte som kg EKM pr. kg TS totalt i rasjonen og kg EKM pr. kg TS surfôr. Ein kan sjå at fôreffektivitet vart lite påverka av behandling i begge forsøk. I D170 var det likevel ein tendens til kg EKM produsert pr. kg TS i rasjonen var noko lågare for PS.

Tabell 18 Effekt av behandling på føreffektivitet målt i kg energikorrigert mjølk produsert pr. kg TS, for alle forsøk

Variabel	Behandling		Standardfeil	p-verdi
	PS	Kontroll		
D170				
EKM, kg/kg TS totalt	1,47	1,48	0,029	0,067*
EKM, kg/kg TS surfôr	2,49	2,50	0,053	0,835
D171				
EKM, kg/kg TS totalt	1,70	1,69	0,069	0,930
EKM, kg/kg TS surfôr	2,83	2,82	0,109	0,922
D170+D171				
EKM, kg/kg TS totalt	1,57	1,57	0,033	0,975
EKM, kg/kg TS surfôr	2,64	2,64	0,056	0,922

Førebehandling hadde ingen effekt på føreffektivitet, anten det var uttrykt som kg EKM pr. kg TS i rasjonen eller som kg EKM pr. kg TS surfôr (tabell 19).

Tabell 19 Effekt av førebehandling på føreffektivitet målt i kg energikorrigert mjølk produsert pr. kg TS, for alle forsøk

Variabel	Førebehandling			p-verdi
	Ingen	Prop.	Kont.	
D170				
EKM, kg/kg TS totalt	1,374	1,526	1,524	0,159
EKM, kg/kg TS surfôr	2,267	2,607	2,609	0,164
D171				
EKM, kg/kg TS totalt	1,920	1,670	1,478	0,276
EKM, kg/kg TS surfôr	3,234	2,797	2,448	0,279
D170+D171				
EKM, kg/kg TS totalt	1,532	1,620	1,532	0,390
EKM, kg/kg TS surfôr	2,526	2,737	2,655	0,399

### 3.3 Diskusjon

Opptil 90% av glukosen drøvtyggjaren kan nyttiggjere seg av kjem frå glukoneogenesen (Young 1977). I topplaktasjon kan ei mjølkeku produsere over 40 kg mjølk dagleg. Med ein laktosekonsentrasjon på om lag 4,7% av mjølkevolumet, skil ei høglakterande ku ut 1,88 kg laktose kvar dag. Om ein reknar med at 60% av kua sitt glukosebehov går til syntese av laktose (Young 1977), tilsvarer dette eit behov for 3,1 kg glukose dagleg. Opptil 90% av dette, altså opptil 2,8 kg, må syntetiserast av dyret sjølv gjennom glukoneogenesen. Dette er spesielt kritisk i høglaktasjon, då kua ofte har problem med å ta opp nok fôr til å møte energibehovet til mjølkeproduksjonen (Madsen & Nielsen 2003).

#### 3.3.1 Fôr og fôropptak

Analyseresultata for surfôr (tabell 12) stemmer relativt godt overeins med dei verdiane i fôrtabellen for tidleg til middels 1.slått av surfôret (Fôrtabellen 2008). Alle kjemiske komponentar ligg innanfor gjennomsnittlege verdjar med unntak av ein - innhaldet av råprotein er noko lågare i vårt surfôr enn det som er oppgitt i fôrtabellen. Dette skuldast mest sannsynleg at enga er økologisk og det difor er nytta mindre nitrogengjødsel enn det som er vanleg i konvensjonell grasdyrking.

Som nemnt oppsto ein ukjend feil under feittanalysane i kraftfôrprøvane, og desse analysesvara avviker difor noko frå den kjemiske samansetnaden oppgitt av Felleskjøpet (tabell 9). Elles samsvarer verdiane frå fôranalysen med den kjemiske samansetnaden som vart rekna ut på førehand.

I alle dei statistiske analysane var både fôropptak målt i kg TS surfôr, og fôropptak målt i kg TS av total rasjon signifikant lågare for PS (Francisco et al. (2002), Oba og Allen (2003) og Weiss et al. (2008) registrerte alle eit redusert fôropptak ved tilsetjing av propionsyrebakteriar eller propionsyre. Oba og Allen (2003) føreslo at den negative effekten kunne skuldast at fôropptaket vart regulert m.a. av mengda glukose i plasma. Når det i dette tilfellet vart tilsett propionsyre i vomma, vart tilgjengeleg av glukogent substrat betre, og meir glukose vart produsert i glukoneogenesen. Dette førte til ei større mengd glukose i plasma, og fôropptaket vart redusert som respons på dette. I våre forsøk vart det registrert berre små skilnadar i mengda propionsyre i vomma, så det er truleg andre faktorar som har spelt inn på fôropptaket. Denne hypotesen vert styrka av det faktum at mjølkemengda for PS faktisk var lågare enn for kontroll, så PS har mest

sannsynleg ikkje produsert meir glukogent substrat. Dette samsvarer bra med den manglande effekten av PS på feittinnhald i mjølka, då meir propionsyre òg burde ha resultert i ein lågare feittprosent.

Infusjon av FFS er synt å redusere fôropptaket, der eddiksyre hadde størst effekt (Ingvarsen & Kristensen 2003). Seymour et al. (2005) fann òg ein negativ effekt av eddiksyre på fôropptak då dei analyserte resultatane frå 20 studiet. Reduksjonen i fôropptak ved PS i desse forsøka var veldig liten (opptil 0,4 kg TS/døgn), så det er mogeleg at dei timane i døgnet der PS hadde ein større produksjon av eddiksyre enn kontroll kan ha hatt ein negativ effekt på fôropptaket. På same tid var ikkje feittinnhaldet i mjølka påverka av behandling, som antyd at heller ikkje tilføringa av eddiksyre til juret var påverka av behandling.

Det er dermed vanskeleg å seie noko konkret om årsaka til skilnaden i fôropptak mellom behandlingar. Kanskje kan det skuldast samspel mellom fleire ulike faktorar, eller faktorar som ikkje har vorte identifiserte. For å finne ei rimeleg forklaring trengst nærare undersøking. Det må likevel framhevast at skilnaden i fôropptak mellom behandlingar var beskjeden, og er av relativt liten betyding.

### 3.3.2 Vom-pH og gjæringsmønster

Det var forholdsvis små skilnadar mellom PS og kontroll i dette forsøket. Ein forventet effekt av propionsyrebehandlinga var redusert pH i vom, forårsaka av ein venta auke av propionsyre. Ein manglande effekt på pH i vom samsvarer med liknande forsøk (Hurtaud et al. 1993; Ghorbani et al. 2002; Lemosquet et al. 2009). Like fullt såg ein at pH-verdiane for dyr under PS-behandling var noko lågare gjennom delar av døgnet. Desse skilnadane er likevel så små og såpass langt over det kritiske punktet (minimum 6,2 for alle observasjonar) at ein truleg ikkje kan tilseie dette nokon negativ effekt.

Normalt varierer den totale mengda VFA i vom mellom 70 og 130 mmol/l (France & Dijkstra 2005). Ein typisk norsk mjølkekurasjon inneheld mykje grovfôr og dermed mykje NDF. I ein slik rasjon reknar ein med at forholdstala mellom eddiksyre, propionsyre og smørsyre er 70:20:10 (Sjaastad et al. 2010). Dette svarer til om lag 70-80 mmol eddiksyre pr. liter, 20-25 mmol propionsyre pr. liter og 10-15 mmol smørsyre pr. liter. Gutierrez (1953) såg tidleg at *Propionibacterium* finst i relativt store mengder i vomma, og antok difor at denne

mikroorganismen var ansvarleg for ein stor del av syntesen av propionsyre. I si undersøking fann han at talet propionsyrebakteriar i vom varierte frå  $2,5 \times 10^5 - 7 \times 10^9$  cfu/ml vomvæske, med eit gjennomsnitt på  $1,3 \times 10^9$  cfu/ml vomvæske. Dette er gamle resultat, og ein kan rekne med at med dagens rasjonar som inneheld meir energi, og større mengder kraftfôr, vil talet på propionsyrebakteriar vere høgare. Det gjer likevel ein peikepinn på talet propionsyrebakteriar i vomma under normale forhold. I forsøket som vert drøfta i denne oppgåva, og tidlegare forsøk (Stein et al. 2006; Lehloenya et al. 2008), vart det dagleg tilsett høvesvis  $5-8 \times 10^{11}$  cfu og  $6 \times 10^{10}$  cfu pr. dyr. Ein auke i propionsyreproduksjonen var difor åvente, og dermed ei endring av gjæringsmønsteret i vom.

I dette forsøket låg verdiane for eddiksyre innanfor normalen (mellom 65 og 82 mmol/l), og ein såg veldig små variasjonar mellom kontroll og PS. Det var vanskeleg å identifisere eit spesielt tydeleg mønster, men ein såg at PS i periodar av døgnet hadde ein noko høgare konsentrasjon av eddiksyre enn kontrolldyr. Det er vist at ein auka konsentrasjon av propionsyre kan gå på kostnad av eddiksyreproduksjonen (Penner et al. 2009; Dijkstra et al. 2012). I førekant av forsøket var det difor forventa ein høgare produksjon av propionsyre i PS, med ein følgjande reduksjon i konsentrasjonen av eddiksyre. Det at konsentrasjonen av eddiksyre tvert imot periodevis er høgare i PS enn i kontroll, kan kanskje skuldast fenomenet «cross-feeding». «Cross-feeding», eller syntrofi, tyder at ein type mikroorganisme bryt ned eit visst substrat til ein sekundær metabolitt som er naudsynt for ein annan mikroorganisme (Gerlee & Lundh 2010). I dette tilfellet er det mogeleg at propionsyrebakteriane produserer ein sekundær metabolitt som fungerer som substrat for eddiksyrebakteriane. Til dømes nyttiggjer *Megasphaera elsdenii* seg av ulike metabolittar frå stivefermenteringa, og produserer m.a. eddiksyre (Maroune & Bartos 1987). Med den auka mengda propionsyrebakteriar vil nedbrytinga av stive gå fortare, og konsentrasjonen av den sekundære metabolitten vert høgare rett etter fôring, derav ein større produksjon av eddiksyre enn forventa. Ei anna mogeleg forklaring kan vere at sidan propionsyrebakteriar omdannar laktat og glukose til propionsyre og eddiksyre (Vorobjeva 1999), kan tilsetjinga av fleire bakteriar gje ein meir effektiv produksjon av begge syrene. Uansett årsak så har det ikkje utøvt nokon effekt utover vommiljøet. Ein av hypotesane før forsøket var at feittinnhaldet i mjølka skulle verte redusert som følgje av mindre eddiksyre og dermed mindre substrat til feittsyntese, men mjølkefeitt var ikkje signifikant forskjellig mellom behandlingar.

Konsentrasjonen av propionsyre i vom følgde, i motsetnad til eddiksyre, eit klart og tydeleg mønster, og ein såg veldig liten skilnad mellom behandlingar. Verdiane for propionsyre oversteig aldri 25 mmol/l, verken for PS eller kontroll. Raeth-Knight et al. (2007) fann heller ingen effekt på konsentrasjon av propionsyre ved tilsetjing av propionsyrebakteriar og mjølkesyrebakteriar, som samsvarer med resultata frå både Ghorbani et al. (2002) og resultatet frå tilsetjing av liknande mengd bakteriar hjå Stein et al. (2006). Andre forsøk igjen har funne signifikante skilnadar i propionsyrekonsentrasjonen ved PS, inkludert Weiss et al. (2008), og Stein et al. (2006), når ei større mengd propionsyrebakteriar vart nytta. Kvifor  $5-8 \times 10^{11}$  cfu pr. dyr dagleg ikkje hadde ein påverknad på produksjonen av propionsyre i dette forsøket er uklart, men er altså i samsvar med fleire andre undersøkingar.

Det var ingen tydeleg skilnad i konsentrasjonen av propionsyre mellom behandlingar, men ein såg at PS oppnådde den største konsentrasjonen propionsyre i vom kortare tid etter fôring enn det kontrollbehandlinga gjorde. Det kan tenkjast at årsaka til dette var ein raskare produksjon av propionsyre på grunn av fleire propionsyrebakteriar i vom.

Konsentrasjonen av smørsyre i vom låg òg innanfor normalen på 10-15 mmol/l, men i det nedre sjiktet. Kontrolldyra hadde jamt over ein lågare smørsyreproduksjon gjennom døgnet enn dyr på PS, men skilnadane er små. Det er likevel mogeleg at dei noko lågare pH-verdiane for PS har lagt forholda til rette for ein svak auke i smørsyreproduksjonen, då denne er synt å auke med fallande pH (Dijkstra et al. 2012).

Den totale konsentrasjonen av syrer i vom varierte frå 58 og 115 mmol/l, og plasserte seg dermed godt innanfor normalverdiane. Det var lite variasjon mellom behandlingar, med unntak av eit forseinka toppunkt for kontrolldyr samanlikna med PS, på same måte som for propionsyre.

Fordi eddiksyre og smørsyre er substrat for de novo-syntese av feitt i jur- og feittvev (Madsen & Nielsen 2003), medan propionsyre er det viktigaste substratet for glukoneogenesen (Danfær et al. 1995), vert forholdet mellom desse tri syrene (E+S/P) ofte nytta som eit mål på substrat tilgjengeleg for dei ulike kjemiske prosessane. Ein låg verdi, som er tilfelle dei første timane etter fôring speglar den raske auken i propionsyre, og tyder dermed at det er rikeleg med substrat til glukoneogenesen. Omvendt er forholdstalet lågare lenger ut i tidsrommet mellom fôringar, og mengda substrat tilgjengeleg for feittsyntesen stig. Ratioen gjennom døgnet reflekterer tydeleg

dei små skilnadane som vart registrerte for dei enkelte syrene, då den er nærast identisk for dei to behandlingane. Dei aller fleste tidlegare forsøk med tilsetjing av propionsyrebakteriar eller propionsyre har dokumentert ein auke i mengda glukogent substrat, m.a. Rigout et al. (2003), Stein et al. (2006) og Hurtaud et al. (1993). At (E+S/P) er såpass lik mellom behandlingar i dette forsøket strider dermed mot deira funn, men reflekterer dei beskjedne skilnadane mellom behandlingar for FFS som vart registrerte i vårt forsøk.

Skilnadane i produksjonen av VFA i vomma kan vere noko større enn kva dei målte konsentrasjonane indikerer, fordi det var ein tendens til skilnad i pH-verdi i vomma. Ein raskare og høgare produksjon av FFS vil gje eit dropp i pH. Lågare pH vil igjen stimulere absorpsjonen av FFS, fordi likevekta mellom dissosierte og udisosierte syrer vert forskyvd, slik at konsentrasjonen av udisosierte syrer aukar (Dijkstra et al. 2012). Som forklart i litteraturdelen diffunderer udisosierte syrer lettare over vomepitelet lettare enn dissosierte syrer, og absorpsjonen av FFS aukar. Skilnadane i produksjon vil altså vere større enn skilnadane i konsentrasjon, men tilsetjing av propionsyrebakteriar hadde likevel liten effekt på produksjonen av FFS i vomma.

I forsøket var det små skilnadar mellom behandling for både pH og FFS i vomma som kan skuldast faktorar ved dyret, som drøvtyggjingsmønster og straumen av næringsstoff ut av vomma (Dijkstra 1994). Enkelte av desse faktorane kan vere genetisk betinga, og dei fullstendige mekanismane bak desse er ikkje kjende.

Ein faktor ein må ta omsyn til når ein tolkar resultata er dei individuelle skilnadane frå dyr til dyr, trass i at dei vart tildelte same rasjon. Prøvar av vomvæske vart til dømes berre tekne frå 4 dyr, så sjølv om det var fleire observasjonar pr. dyr og periode, er framleis dyrematerialet såpass lite at individuelle skilnadar vil kunne gjere relativt tydelege utslag. Eit døme er observasjonen av at ku nr. 5764 generelt hadde lågare verdiar for pH enn dei andre dyra, og dermed drog ned snittet enkelte dagar. Forsøket var likevel bygd opp for å unngå dette, då kvar dyr var sin eigen kontroll gjennom fleire gjentak, og utslaga av individuelle skilnadar er truleg relativt ubetydeleg.

### **3.3.3 Mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølka**

Mjølkeytinga var signifikant forskjellig mellom behandlingar i både D170 og D171, men ikkje når observasjonane vart behandla samla. I D170, dei intakte dyra, var mjølkeytinga for PS 0,5 kg



lågare pr. dag enn kontroll. For D171, dei fistulerte dyra, produserte PS 1 kg meir enn på kontroll. At det ikkje vart observert eit signifikant utslag når forsøka vart behandla saman, skuldast at denne analysen vert eit produkt av dei to motstridande analysane. I og med at D170 var balansert med tanke på laktasjonsnummer, og at kyrne var nærare kvarandre i DIM, samt at dei hadde fleire gjentak pga. fleire periodar, er resultata derifrå meir pålitelege enn dei frå D171. I D171 var kvar ku i forskjellig laktasjon, der spesielt ku nr. 4772 som både var eldst og tyngst, påverka observasjonane kraftig. Resultata for D170 kjem difor til å verte mest vektlagde i dette avsnittet.

Kilo EKM tenderte til å vere høgare for kontroll enn for PS. Mengd EKM er eit resultat av produksjon (kg mjølk) og kjemisk samansetnad (innhald av feitt, protein og laktose). For PS var kilo mjølk og prosent protein signifikant lågare enn for kontroll, noko som resulterte i om lag 0,7 kg mindre EKM.

Ein av hypotesane i førekant av forsøket var at PS skulle gje betre tilgjenge på glukogent substrat, og at ein mogleg effekt av dette kunne vere auka mjølkemengd. Andre forsøk har både stadfesta (Stein et al. 2006; de Ondarza & Seymour 2008) og avkrefta (Francisco et al. 2002; Weiss et al. 2008) denne hypotesen. I D170 var den daglege mjølkeytinga 0,5 kg lågare for PS mjølk og kg EKM var 0,7 kg lågare. Dette uventa resultatet kan ha si forklaring i at fôropptaket var noko lågare for PS enn for kontroll. Den maksimale reduksjonen i fôropptak var 0,4 kg TS pr. dag. Ettersom det ikkje var nokon restar av kraftfôr gjennom heile forsøket veit ein at reduksjonen i fôropptak må kome frå inntak av mindre grovfôr. I fôrtabellen er det oppgitt at 1 kg tørrstoff med det brukte surfôret inneheld 0,93 FEm (Fôrtabellen 2008). Ein FEm inneheld 6,9 megajoule (MJ) (Ekern 1991). Om ein reknar med at den daglege reduksjonen i fôropptak for PS var mellom 0,2 og 0,4 kg TS pr. dag, svarer dette til eit lågare opptak av energi på 1,28 til 2,57 MJ pr. dag. Energiverdien i 1 kg EKM er 3,14 MJ, og energiinnhaldet i 0,7 kg EKM er dermed 2,2 MJ. Måler ein den reduserte mjølkemengda i energi ser ein altså at det svarer bra til det reduserte energiinntaket. Ei lågare mjølkemengd for PS er difor truleg skulda ei mindre energiforsyning heller enn ein effekt av propionsyrebakteriane *per se*.

Mjølkemengda var òg påverka av førebehandling, der førebehandlinga «ingen» resulterte i ei høgare mjølkemengd enn kva både PS og kontroll som førebehandling gjorde. Ingen førebehandling var berre aktuelt for ein periode; periode 1. Òg samspel mellom førebehandling

og behandling gav signifikante utslag på mjølkemengd, der berre observasjonar med ingen førebehandling gav utslag; denne førebehandlinga i kombinasjon med kontroll som hovudbehandling gav signifikant høgare mjølkemengd enn alle andre kombinasjonar. Ei mogeleg forklaring på dette kan vere at i den første perioden var dyra framleis ikkje vane med den fysiske behandlinga under tilføring av væske, og responderte negativt på dette. Etersom òg fôropptaket var høgare ved førebehandling «ingen», kan det tyde på at dette gjekk ut over fôropptaket, som igjen påverka mjølkemengda. Utover i forsøksperioden vart dyra vane med behandlinga, samt at prosessen gjekk fortare ettersom teknikken vart meir finpusa, og den negative effekten av behandlinga forsvann.

Vekstmediet som vart tilsett dyra både som kontrollvæske og saman med propionsyrebakteriane innehaldt mellom anna gjærsopp. Dette var gitt til alle dyra fordi det på førehand var kjent at enkelte forsøk med tilføring av gjærsopp til vomma hadde resultert i ein høgare mjølkeproduksjon (Williams et al. 1991; Wohlt et al. 1991; Erasmus et al. 1992). Andre forsøk igjen synt ingen effekt av behandling med gjærsopp (Erdman & Sharma 1989; Kung Jr et al. 1997; Dann et al. 2000). Om gjæren i seg sjølv hadde hatt ein verknad på mjølkemengda, burde det ha synt seg i ei lågare mjølkemengd for dyr som hadde fått førebehandlinga «ingen», fordi dette indikerte starten på forsøket og tildeling av vekstmediet.

Få parametrar for mjølkesamansetnad vart påverka av behandling. Ein av hypotesane før forsøket var at proteininnhaldet i mjølka kunne auke i samband med PS, sidan glukogene aminosyrer i fôr og kroppsreserve vart spart som følgje av ei betre tilføring av glukogent substrat (Van Soest 1994). Dette viste seg ikkje å vere tilfelle, faktisk såg ein i D170 ein tendens til at proteininnhaldet for PS var lågare enn for kontrollbehandlinga. Verken de Ondarza og Seymour (2008), Lehloenya et al. (2008) eller Weiss et al. (2008) såg nokon skilnad på proteininnhaldet i mjølk ved tilsetjing av propionsyrebakteriar. Imidlertid registrerte Rigout et al. (2003) ein liten auke i proteininnhaldet ved same behandling. Proteininnhaldet i mjølk er vanskeleg å endre via fôring, både fordi den naturlege variasjonen er mindre enn t.d. feitt, men òg fordi ein del av prosessen bak påverknaden er ukjend (Sutton 1988). Det er likevel kjent at dei fôrfaktorane som påverkar proteinkonsentrasjonen mest er energi- og proteindekning, Skilnaden i dette forsøket var liten (hhv. 3,11 og 3,14), og det er mogeleg at òg dette, på same måte som mjølkemengda, kan skuldast det reduserte fôropptaket for PS og/eller naturleg variasjon.

Ein annan hypotese i førekant av forsøket var at feittkonsentrasjonen i mjølka kunne gå ned. Bakgrunnen for denne hypotesen er at produksjonen av eddiksyre vil verte redusert når pH fell og dei cellulolytiske bakteriane får nedsett aktivitet (Dijkstra et al. 2012). Seymour et al. (2005) synte òg at produksjonen av mjølkefeitt var negativt korrelert til propionsyre, som var forventa å stige under PS. Feittprosenten var ikkje signifikant forskjellig mellom behandlingar, truleg grunna den manglande auken i propionsyre og medfølgjande låg pH som var forventa.

Saman med prosent protein, var laktosekonsentrasjonen ein av to kjemiske komponentar som var signifikant forskjellig mellom behandlingar. Høgare laktosekonsentrasjon, som resultat av PS, som var tilfelle i dette forsøket, er òg dokumentert av m.a. Stein et al. (2006), Lehloenya et al. (2008) og Lemosquet et al. (2009). Denne auken i laktose var forventa, sidan mengda glukogent substrat var venta å stige. Teoretisk sett burde dette resultert i ein høgare mjølkeproduksjon (Young 1977), men tvert i mot vart ein redusert mjølkeproduksjon registrert. Skilnaden i laktosekonsentrasjonen er såpass låg (0,03%), at ein utgår frå at dette ikkje er anna enn naturleg variasjon.

### **3.3.4 Fôreffektivitet**

Fôreffektiviteten vart berekna som kg EKM produsert pr. kg TS fôr, både for det totale fôrinntaket og for surfôrinntaket. Det einaste utslaget var ein tendens til lågare kg EKM/kg TS totalt for PS i forsøket med intakte dyr. Dette er eit logisk resultat av ein lågare produksjon av at skilnaden i produksjon av EKM var relativt større enn skilnaden i fôropptak. Statistisk sett er fôreffektiviteten som er basert på surfôropptaket meir interessant, då det totale opptaket til ei viss grad kan ha vorte påverka av dei avgrensa kraftfôrmengdene. Dermed uttrykkjer ikkje faktoren basert på totalt fôropptak ikkje fullt ut effekten av PS på fôropptak. Kilo EKM/kg TS surfôr var mest sannsynleg ikkje signifikant på grunn av større dagleg variasjon i opptak, både innan og mellom dyr.

### 3.4 Konklusjon

Desse forsøka har synt at tilsetjing av propionsyrebakteriar frå familien *Propionibacteriaceae* utøver liten effekt på mjølkeyting og kjemisk samansetnad av mjølk. Resultata er ikkje eintydige, men årsaka til den fråverande responsen har mest sannsynleg sitt opphav i den unnselige verknaden på produksjonen av flyktige feittsyrer i vom. Dette gjorde at tilgjenge på substrat til syntese av ulike komponentar i mjølk ikkje var signifikant forskjellig mellom behandlingar. Til tross for små effektar på vommiljø og mjølkemengd vart det observert at PS gav ein reduksjon i fôropptak, men bakgrunnen til dette er uklar. Det må òg påpeikast at dette var små forsøk med få dyr, og dels store individuelle skilnadar kan difor ha bidrege til å gjere resultata meir usikre.

## 4.0 Litteraturliste

- Andresen, Ø., Baustad, B., Birkeland, R., Fjeldaas, T., Frøslie, A., Gjerde, B., Grønstøl, H., Steen, A., Waage, S. & Ødegaard, S. A. (2003). *Storfesjukdommer*. 2 utg. Oslo: Landbruksforlaget. 272 s.
- Ballard, C. S., Mandebvu, P., Sniffen, C. J., Emanuele, S. M. & Carter, M. P. (2001). Effect of feeding an energy supplement to dairy cows pre-and postpartum on intake, milk yield, and incidence of ketosis. *Animal Feed Science and Technology*, 93 (1): 55-69.
- Bauman, D. E. & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23 (1): 203-227.
- Bequette, B. J., Backwell, F. R. C. & Crompton, L. A. (1998). Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *Journal of Dairy Science*, 81 (9): 2540-2559.
- Bragg, D. S. A., Murphy, M. R. & Davis, C. L. (1986). Effect of source of carbohydrate and frequency of feeding on rumen parameters in dairy steers. *Journal of Dairy Science*, 69 (2): 392-402.
- Børsting, C. F., Weisbjerg, M. R. & Hermansen, J. E. (2003). Fedtomsætningen i mave-tarmkanalen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, N. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 311-330: Danmarks JordbrugsForskning.
- Cheeke, P. R. & Dierenfeld, E. S. (2010). *Comparative animal nutrition and metabolism*. Wallingford, UK: CABI. 339 s.
- Coulon, J. B. & Rémond, B. (1991). Variations in milk output and milk protein content in response to the level of energy supply to the dairy cow: a review. *Livestock Production Science*, 29 (1): 31-47.
- Danfær, A., Tetens, V. & Agergaard, N. (1995). Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111 (2): 201-210.
- Dann, H. M., Drackley, J. K., McCoy, G. C., Hutjens, M. F. & Garrett, J. E. (2000). Effects of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on Prepartum Intake and Postpartum Intake and Milk Production of Jersey Cows. *Journal of Dairy Science*, 83 (1): 123-127.

- de Ondarza, M. B. & Seymour, W. M. (2008). Case study: Effect of Propionibacteria Supplementation on Yield of Milk and Milk Components of Dairy Cows. *The Professional Animal Scientist*, 24 (3): 254-259.
- Dijkstra, J. (1994). Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Production Science*, 39 (1): 61-69.
- Dijkstra, J., Ellis, J., Kebreab, E., Strathe, A., López, S., France, J. & Bannink, A. (2012). Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technology*, 172 (1): 22-33.
- Ekern, A. (1991). A new system of energy evaluation of food for ruminants. *Norsk landbruksforskning*, 5: 273-277.
- Erasmus, L. J., Botha, P. M. & Kistner, A. (1992). Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75 (11): 3056-3065.
- Erdman, R. A. & Sharma, B. K. (1989). Effect of yeast culture and sodium bicarbonate on milk yield and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72 (7): 1929-1932.
- Fôrtabellen. (2008). *Fôrtabell*: Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap, NMBU. Tilgjengelig fra: <http://statisk.umb.no/iha/fortabell/index.php> (lest 23.05).
- France, J. & Dijkstra, J. (2005). Volatile fatty acid production. I: Dijkstra, J., Forbes, J. M. & France, J. (red.) *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, s. 157-175. Wallingford, U.K.: CAB International.
- Francisco, C. C., Chamberlain, C. S., Waldner, D. N., Wettemann, R. P. & Spicer, L. J. (2002). Propionibacteria Fed to Dairy Cows: Effects on Energy Balance, Plasma Metabolites and Hormones, and Reproduction. *Journal of Dairy Science*, 85 (7): 1738-1751.
- Gerlee, P. & Lundh, T. (2010). Productivity and diversity in a cross-feeding population of artificial organisms. *Evolution*, 64 (9): 2716-2730.
- Ghorbani, G. R., Morgavi, D. P., Beauchemin, K. A. & Leedle, J. A. Z. (2002). Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 80 (7): 1977-1985.
- Guinard-Flament, J., Delamaire, E., Lemosquet, S., Boutinaud, M. & David, Y. (2006). Changes in mammary uptake and metabolic fate of glucose with once-daily milking and feed restriction in dairy cows. *Reproduction Nutrition Development*, 46 (5): 589-598.

- Gutierrez, J. (1953). Numbers and characteristics of lactate utilizing organisms in the rumen of cattle. *Journal of bacteriology*, 66 (2): 123.
- Hermansen, J. E., Nielsen, J. H., Larsen, L. B. & Sejrsen, K. (2003). Mælkens sammensætning og kvalitet. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 - Fodring og produktion, DJF rapport*, s. 341-366: Danmarks JordbrugsForskning.
- Huntington, G. B. & Archibeque, S. L. (1999). *Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants*. Proc. Am. Soc. Anim. Sci. 1-11 s.
- Hurtaud, C., Rulquin, H. & Verite, R. (1993). Effect of Infused Volatile Fatty Acids and Caseinate on Milk Composition and Coagulation in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 76 (10): 3011-3020.
- Hvelplund, T., Madsen, J., Misciattelli, L. & Weisbjerg, M. R. (2003). Proteinomsætningen i mave-tarmkanalen og dens kvantificering. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 281-311: Danmarks JordbrugsForskning.
- Ingvartsen, K. L. & Kristensen, V. F. (2003). Regulering af foderoptagelsen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF Rapport*, s. 147-209: Danmarks JordbrugsForskning.
- Kalscheur, K. F., Vandersall, J. H., Erdman, R. A., Kohn, R. A. & Russek-Cohen, E. (1999). Effects of Dietary Crude Protein Concentration and Degradability on Milk Production Responses of Early, Mid, and Late Lactation Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 82 (3): 545-554.
- Kristensen, N. B., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. & Nørgaard, P. (2003a). Mikrobiel omsætning i formaverne. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 211-235.
- Kristensen, N. B., Misciattelli, L. & Danfær, A. (2003b). Næringsstoffernes absorption og tilgængelighed for de perifere væv. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, N. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF Rapport*, s. 389-418: Danmarks JordbrugsForskning.
- Kristensen, V. F. & Ingvartsen, K. L. (2003). Forudsigelse af foderoptagelsen hos malkekøer og ungdyr. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, N. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 -*

- Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 511-564: Danmarks JordbrugsForskning.
- Kristensen, V. F., Weisbjerg, M. R., Børsting, C. F., Aaes, O. & Nørgaard, P. (2003). Malkekoens energiforsyning og produktion. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 - Fodring og produktion, DJF rapport*, s. 73-112: Danmarks JordbrugsForskning.
- Kung Jr, L., Kreck, E. M., Tung, R. S., Hession, A. O., Sheperd, A. C., Cohen, M. A., Swain, H. E. & Leedle, J. A. Z. (1997). Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80 (9): 2045-2051.
- Lehloenya, K. V., Stein, D. R., Allen, D. T., Selk, G. E., Jones, D. A., Aleman, M. M., Rehberger, T. G., Mertz, K. J. & Spicer, L. J. (2008). Effects of feeding yeast and propionibacteria to dairy cows on milk yield and components, and reproduction. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92 (2): 190-202.
- Lemosquet, S., Rigout, S., Bach, A., Rulquin, H. & Blum, J. W. (2004). Glucose Metabolism in Lactating Cows in Response to Isoenergetic Infusions of Propionic Acid or Duodenal Glucose. *Journal of Dairy Science*, 87 (6): 1767-1777.
- Lemosquet, S., Delamaire, E., Lapierre, H., Blum, J. W. & Peyraud, J. L. (2009). Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92 (7): 3244-3257.
- Leng, R. A. & Nolan, J. V. (1984). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 67 (5): 1072-1089.
- Macleod, G. K., Grieve, D. G., McMillan, I. & Smith, G. C. (1984). Effect of varying protein and energy densities in complete rations fed to cows in first lactation. *Journal of Dairy Science*, 67 (7): 1421-1429.
- Madsen, T. G. & Nielsen, M. O. (2003). Næringsstofomsætning i ekstrahepatiske væv. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, N. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 419-462: Danmarks JordbrugsForskning.
- Maroune, M. & Bartos, S. (1987). Interactions between rumen amyolytic and lactate-utilizing bacteria in growth on starch. *Journal of Applied Microbiology*, 63 (3): 233-238.



- McArthur, M. J., Atshaves, B. P., Frolov, A., Foxworth, W. D., Kier, A. B. & Schroeder, F. (1999). Cellular uptake and intracellular trafficking of long chain fatty acids. *Journal of lipid research*, 40 (8): 1371-1383.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2011). *Animal Nutrition*. 7 utg. Harlow, England: Pearson Education Limited. 692 s.
- Mo, M. (2005). *Surförboka*. 1 utg. Oslo: Landbruksforlaget, Tun Forlag AS. 221 s.
- Nocek, J. E. & Tamminga, S. (1991). Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10): 3598-3629.
- Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: Implications on laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80 (5): 1005-1028.
- NRC, N. R. C. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*. 7 utg. Washington, D.C.: The National Academies Press.
- Oba, M. & Allen, M. S. (2003). Dose-response effects of intrauminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or midlactation. *Journal of Dairy Science*, 86 (9): 2922-2931.
- Palmquist, D. L., Beaulieu, A. D. & Barbano, D. M. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science*, 76 (6): 1753-1771.
- Penner, G. B., Taniguchi, M., Guan, L. L., Beauchemin, K. A. & Oba, M. (2009). Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue. *Journal of Dairy Science*, 92 (6): 2767-2781.
- Prestløkken, E. & Harstad, O. M. (2001). Effects of expander-treating a barley-based concentrate on ruminal fermentation, bacterial N synthesis, escape of dietary N, and performance of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 90 (3-4): 227-246.
- Raeth-Knight, M. L., Linn, J. G. & Jung, H. G. (2007). Effect of direct-fed microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (4): 1802-1809.

- Rigout, S., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Bach, A. & Rulquin, H. (2003). Lactational Effect of Propionic Acid and Duodenal Glucose in Cows. *Journal of Dairy Science*, 86 (1): 243-253.
- Robinson, P. H. & McQueen, R. E. (1994). Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77 (5): 1340-1353.
- Seymour, W. M., Campbell, D. R. & Johnson, Z. B. (2005). Relationships between rumen volatile fatty acid concentrations and milk production in dairy cows: a literature study. *Animal Feed Science and Technology*, 119 (1-2): 155-169.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2 utg. Oslo, Norway: Scandinavian Veterinary Press. 804 s.
- Stein, D. R., Allen, D. T., Perry, E. B., Bruner, J. C., Gates, K. W., Rehberger, T. G., Mertz, K. J., Jones, D. & Spicer, L. J. (2006). Effects of Feeding Propionibacteria to Dairy Cows on Milk Yield, Milk Components, and Reproduction. *Journal of Dairy Science*, 89 (1): 111-125.
- Strudsholm, F. (2003). Vand til malkekøer. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 - Fodring og produktion, DJF rapport*, s. 189-200: Danmarks JordbrugsForskning.
- Sutton, J. D. (1988). Altering Milk Composition by Feeding. *Journal of Dairy Science*, 72 (10): 2801-2814.
- Sutton, J. D., Dhanoa, M. S., Morant, S. V., France, J., Napper, D. J. & Schuller, E. (2003). Rates of Production of Acetate, Propionate, and Butyrate in the Rumen of Lactating Dairy Cows Given Normal and Low-Roughage Diets. *Journal of Dairy Science*, 86 (11): 3620-3633.
- Van Houtert, M. F. J. (1993). The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 43 (3): 189-225.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. Ithaca, New York: Cornell University Press.
- Vorobjeva, L. (1999). *Propionibacteria*. Boston, MA.: Kluwer Acad. Publishers. 302 s.
- Wales, W. J., Kolver, E. S., Thorne, P. L. & Egan, A. R. (2004). Diurnal variation in ruminal pH on the digestibility of highly digestible perennial ryegrass during continuous culture fermentation. *Journal of Dairy Science*, 87 (6): 1864-1871.

- Wang, C., Liu, J. X., Yuan, Z. P., Wu, Y. M., Zhai, S. W. & Ye, H. W. (2007). Effect of Level of Metabolizable Protein on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2960-2965.
- Weisbjerg, M. R., Lund, P. & Hvelplund, T. (2003). Kulhydratomsætningen i mave-tarmkanalen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, DJF rapport*, s. 239-280: Danmarks JordbrugsForskning.
- Weiss, W. P., Wyatt, D. J. & McKelvey, T. R. (2008). Effect of Feeding Propionibacteria on Milk Production by Early Lactation Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 91 (2): 646-652.
- Williams, P. E. V., Tait, C. A., Innes, G. M. & Newbold, C. J. (1991). Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *Journal of Animal Science*, 69 (7): 3016-3026.
- Wohlt, J. E., Finkelstein, A. D. & Chung, C. H. (1991). Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility, and performance by dairy cattle during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 74 (4): 1395-1400.
- Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., Koenig, K. M. & Rode, L. M. (1997). Comparison of hull-less barley, barley, or corn for lactating cows: effects on extent of digestion and milk production. *Journal of Dairy Science*, 80 (10): 2475-2486.
- Yang, W. Z., Beauchemin, K. A. & Rode, L. M. (2001). Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84 (10): 2203-2216.
- Young, J. W. (1977). Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. *Journal of Dairy Science*, 60 (1): 1-15.



Noregs miljø- og  
biovitenskaplege  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)