

Forord

Denne studien er avslutningen på min mastergrad i biologi med fordypning i ernæring og fysiologi ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Denne studien er en del av et større forsøk, OptGraze. Det har vært en lærerik prosess og gitt meg en god forståelse av hvordan kyr oppfører seg på beite og en dypere innsikt drøvtyggerernæring.

Først av alt ønsker jeg å takke min veileder Egil Prestløkken for god veiledning og støtte gjennom hele skriveprosessen. I tillegg vil jeg takke biveileder Håvard Steinshamn for god hjelp. En stor takk til Alemayehu K. Sagye for god hjelp under feltarbeidet og for god hjelp i skriveprosessen.

Jeg vil også takke alle i sommerfjøset for god hjelp og for hyggelig stunder under forsøket. Dere gjorde feltarbeidet mye bedre, som gjorde at jeg alltid klarte å komme meg tidlig opp av senga for å jobbe. Tusen takk til alle andre som har hjulpet til under forsøket og med skriveprosessen.

En spesiell takk til kjæresten min Magnus Nygård for støtte og oppmuntring under hele skriveprosessen og i siste innspurten for å bli ferdig. Tilslutt vil jeg takke alle medstudenter mine. Mine fem år her på Ås har vært en fin tid med mange gode opplevelser

Ås, desember 2015

Marte Sofie Neraas

Sammendrag

Globalt representere husdyrproduksjon 14,5 % av antropogene klimagassutslipp, mens landbruket i Norge står for tilsvarende 9 %. Innenfor husdyrproduksjon kommer den største andelen av klimagassutslippene fra metanutslipp hos melkekyr. Dette skyldes den mikrobielle fermenteringen i vomma, som medfører et overskudd av hydrogen. Metanogene bakterier bruker hydrogen som et substrat, og sluttproduktet er metan. Mengde frie hydrogenmolekyl er styrt gjennom produksjonen av eddiksyre, smørsyre og propionsyre.

Hensikten med denne oppgaven var å undersøke om tre ulike beitemetoder hadde en påvirkning på metanutslipp og fôropptak hos melkekyr. Metanproduksjonen ble målt ved hjelp av SF₆ metoden. Metoden går ut på at du bruker en kapsel med kjent frigjøringsrate som en referanse for å beregne metanproduksjonene. Prosjektet hadde to perioder, en om våren og en om sensommeren. Hypotesen om at stripebeiting vil føre til mindre metanutslipp ble ikke bekreftet. Selv om min studie ikke fikk påvist at ulike beitemetoder påvirker metanutslipp, kan det likevel ikke utelukkes da resultatene for beregnet metanproduksjon var varierende og upresise. Metanutslippet variert fra 263 g/dag til 315 g/dag gjennom forsøket.

Melkeproduksjonen var høyest om våren og gikk ned med noen kilo til sensommeren, generelt sett fulgte også fôropptaket denne trenden. Det ble heller ikke påvist at de ulike beitemetodene hadde en effekt på melkeproduksjonen og fôropptaket. Det har i tidligere studier blitt vist at SF₆ metoden gir store variasjoner i beregning av metanutslipp og at den er noe upresis, noe som denne studien også fant. Det har blitt antatt at frigjøringsrate av SF₆ er konstant, men nyere studier har påvist at dette er feil.

Abstract

Global livestock production represent 14.5 % of anthropogenic greenhouse gas emissions, while agriculture in Norway is responsible for 9%. Within livestock production comes the largest part of the methane emission from dairy cows. This is cause by the microbial fermentation in the rumen, as an excess of hydrogen. Methanogenic bacteria are using this as a substrate, and the final product is methane. The amount of hydrogen molecule is mainly controlled true the production of acetic acid, butyric acid and propionic acid.

The purpose of this study was to investigate if three different pasture allocation techniques had an impact on the methane emissions and feed intake of dairy cows. Methane production was measured using the SF₆ method. The method involves a capsule with a known release rate and this is used as a reference to calculate the methane production. The project had two periods, one in the spring and one in late summer. The hypothesis that stated that strip pastures would give lowered emissions of methane was not confirmed. My study did not prove that different pasture allocation techniques had an impact on the methane emissions, but it should not be excluded as the results for calculated methane production fluctuate and was inaccurate. Methane emissions varied from 263 g/day to 315 g/day throughout the study. The milk production was highest in the spring and went down with ten kg at the late summer period, generally the food intake also followed this trend. It was not proven that the different pasture allocation technique had an effect on milk production and food ingestion. In previous studies it has been shown that SF₆ method gives large variations in calculation of methane emission and is somewhat inaccurate, which this study also found. It has been assumed that the release rate of SF₆ is constant, but recent studies have proven that this is wrong.

Innholdsfortegnelse

| | |
|--|-----------|
| Forord | I |
| Sammendrag | II |
| Abstract | III |
| 1.0 Innledning | 1 |
| 2.0 Teoridel | 3 |
| 2.1 Klimagasser og landbruk..... | 3 |
| 2.2 Generelt om ernæring og fysiologi hos drøvtyggere | 4 |
| 2.3 Bakteriell fordøyelse av hovdenæringsstoff i vom | 5 |
| 2.3.1 Karbohydrater | 5 |
| 2.3.2 Protein | 6 |
| 2.3.3 Fett | 7 |
| 2.4 Produksjon av VFA i vom | 7 |
| 2.5 Dannelsen av metan i vom (Metanogenese) | 8 |
| 2.5.1 Metanogene bakterier | 10 |
| 2.6 Metoder for å måle metan | 11 |
| 2.6.1 Gasskammer | 11 |
| 2.6.2 SF ₆ markørmetoden | 12 |
| 2.6.3 Andre metoder | 13 |
| 3.0 Material og metode | 15 |
| 3.1 Beskrivelse av forsøket og område | 15 |
| 3.2 Beskrivelse av dyr og beiteareal | 16 |
| 3.3 Opplegg og gjennomføring av forsøket..... | 18 |
| 3.4 Uttak av prøve og analyse..... | 20 |
| 3.4.1 Registrering av beitekvalitet og opptak av gress..... | 20 |
| 3.4.2 Tildeling av markør og beregning av fordøyelighet..... | 21 |
| 3.4.3 Melkemengde og kvalitet | 21 |
| 3.4.4 Registrering av metan | 21 |
| 3.4.5 Øvrige målinger | 23 |
| 3.5 Statistikk..... | 24 |
| 3.6 Beregninger | 24 |
| 4.0 Resultater | 27 |
| 4.1 Kjemisk sammensetning og energiverdi av beitegress og kraftfôr | 27 |
| 4.2 Melkeproduksjon..... | 29 |
| 4.3 Estimering av beiteopptak..... | 30 |
| 4.4 Målt metanutslipp..... | 33 |
| 4.5 vektendring..... | 36 |
| 5.0 Diskusjon..... | 38 |
| 5.1 Vurdering av metode | 38 |
| 5.2 Beregning av beiteopptak | 40 |
| 5.3 Effekt av ulike beitemetoder på metanutslipp og fôropptak | 41 |
| 6.0 Konklusjon | 44 |
| 7.0 Referanse..... | 45 |
| Vedlegg 1 Værdata | 49 |

1.0 Innledning

På verdens basis er det årlige menneskeskapte (antropogene) utslippet av de tre viktigste klimagassene fordelt omtrentlig med 76 % på karbondioksid (CO_2), 16 % på metan (CH_4) og 6 % på lystgass (N_2O) (IPPC 2014). Utslippet av klimagasser har blitt relatert til klimaforandringen som vi opplever og gjennom de siste årene har vi blitt mer oppmerksomme på hvordan antropogent utslipp påvirker miljøet vi lever i. Husdyrproduksjon representerer 15 % av globale antropogene klimagassutslipp (Gerber et al. 2013). Innenfor husdyrproduksjonen er det drøvtyggere, og da spesielt melkekyr, som står for de meste av utslippet gjennom sin mikrobiell fermentering og produksjon av metan i vomma. I følge Gerber et al. (2013) utgjør denne enteriske metanproduksjonen totalt 39 % av det globale utslippet fra husdyrproduksjonen. I Norge står landbruket for omtrent 9 % av antropogent utslipp (Grønlund & Harstad 2014). Jordbruket står for omtrent 50 % av de totale menneskeskapte utslippene av metan i Norge, og av det kommer 86 % fra fordøyelse av fôr hos drøvtyggere (Grønlund & Harstad 2014).

Metan er et unngåelig tap av energi fra drøvtyggere og utgjør mellom 2-12 % av bruttoenergien (Johnson et al. 1994). Metan kan bli sett på som et avfallsprodukt etter fermentering av fôr i vom og blir dannet ved at mikrober i vomma omdanner frie hydrogenmolekyl og karbondioksid til metan og vann (Moss et al. 2000). Mengden metan som dannes er styrt av mengden frie hydrogenmolekyl i vomma. Mengden frie hydrogenmolekyl er påvirket av flere forhold. Det viktigste er fôret og fôring og innvirkningen dette har på mengden og hvilke flyktige fettsyrer som blir dannet i vomma. Forholdet mellom produksjon av eddiksyre og smørsyre, sammenlignet med produksjonen av propionsyrer, er den viktigste påvirkningsfaktorene på mengden frie hydrogenmolekyl i vomma. Generelt vil en økende produksjon av propionsyre føre til lavere produksjon av eddiksyrer og smørsyre. Dette reduserer overskuddet av hydrogen i vomma, og mindre metan vil bli produsert (Johnson & Johnson 1995). Tidligere har det blitt vist at passasjehastigheten også spiller inn på dannelsene av metan i vomma. Metanogene bakterier har en lavere veksthastighet enn andre bakterier. Antall bakterier vil bli redusert når passasjehastigheten øker, og i de aller fleste tilfellene vil passasjehastigheten øke når dietten inneholder stivelse og lettfordøyelige karbohydrater (Hook et al. 2010), og dermed redusere produksjonen av metan.

Beite er en viktig del av fôrgrunnlaget i melkeproduksjonen. Kunnskapen om produksjon av metan hos kyr på beite er imidlertid begrenset og det er gjort få forsøk på det tidligere i

Norge. I forbindelse med et større prosjekt omkring ulike beitestrategier til melkekyr (OptGraze) var det derfor naturlig å inkludere måling av metan hos kyr på beite.

For å måle produksjonen av metan ble markøren svovel heksa-fluorid (SF_6) benyttet da denne metoden er eneste mulighet for en nøyaktig måling av metanproduksjon hos kyr på beite (Johnson et al. 1994). Metoden går ut på å legge en kapsel med en kjent utslippsrate av SF_6 i vomma, og bruker den som et referansepunkt mot utslipp av metan fra munnen og nesen til dyret.

Denne oppgaven tar for seg produksjonen av metan fra melkekyr på beite. Målet med oppgaven var å undersøke hvordan tre ulike beitestrategier (skiftebeiting og to ulike former for stripebeiting) virket inn på utslippet av metan. Forsøket ble gjennomført våren og sommeren i 2014. Følgende hypoteser ble satt opp for forsøket:

- Ved stripebeiting vil kyrne få et mer balansert næringsopptak og produsere mindre metan enn ved skiftebeiting.
- Melke kvalitet, utslipp av metan og ytelse vil være bundet opp mot daglig tørrstoff (TS) opptak og kvaliteten på TS. Derfor vil de kyrne som får mest mulig optimal tilgang på tørrstoff produsere mest melk og ha minst utslipp av.
- Mengde produsert CH_4 vil være avhengig av opptak av fôr per kg TS og kvaliteten av det. God kvalitet av beitegresset vil gi høyt opptak av beitegress og føre til en lavere produksjon av metan per kg TS opptatt.

Opgaven består av en litteraturredel som tar for seg fermentering og dannelse av CH_4 hos drøvtyggere, og egne undersøkelser som tar for seg forsøket med resultater og konklusjon.

2.0 Teoridel

2.1 Klimagasser og landbruk

Klimaet er i stadig endring. Mye tyder på at de store klimaendringene vi har sett de siste 50 årene er skapt av mennesker og måten vi lever på. I følge FNs klimarapport vil økt global temperatur føre til 1) lavere matproduksjon, 2) dårlig tilgang til ferskvann, 3) mer ekstremvære, 4) forsuring av havet, og 5) tap av arter i truede økosystem (IPPC 2014).

Omfanget av klimaendringene er diskutert, men konsentrasjonen av karbondioksid, metan og lystgass i atmosfæren har økt betraktelig siden 1750 og fram til i dag på grunn av menneskelig aktivitet. I 1750 var konsentrasjonen av karbondioksid, metan og lystgass, henholdsvis 285 ppm, 715 ppb og 270 ppb (Forster et al. 2007), mens den i 2011 var økt til 391 ppm, 1803 ppb og 324 ppb (IPPC 2013). Konsentrasjonen av gassene i atmosfæren er fortsatt økende, og mest sannsynlig vil dette føre til at temperaturen fortsatt øker. For å unngå ytterligere endringer i klimaet må denne utviklingen bremses, og om mulig reverseres.

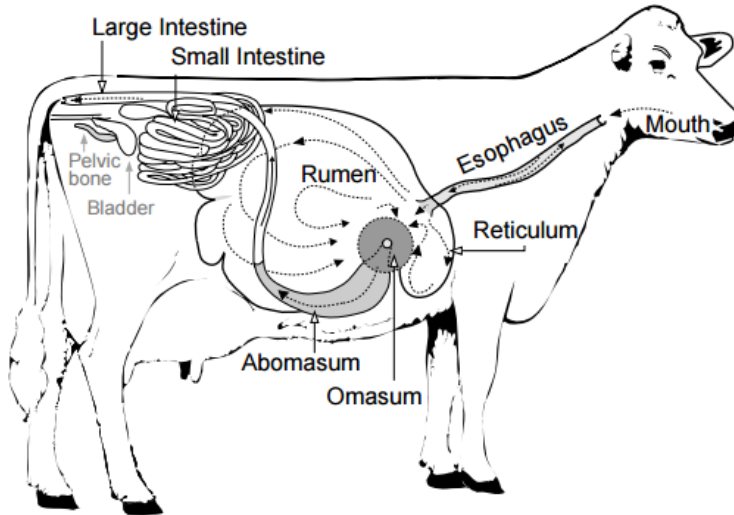
Det er i dag bred enighet om å begrense den globale oppvarmingen til 2° C innen 2100, med referansepunkt til tiden før den industrielle revolusjonen (Rosen & Guenther 2015). Selv om vi skulle klare å begrense utslippene drastisk, er det imidlertid fortsatt en rekke klimagasser i atmosfæren som vil gi en effekt i lang tid fremover (Marianne & Cathrine 2007).

Klimaforandringene vi ser i dag vil ifølge Øygarden et al. (2014) trolig ha en innvirkning på hvordan vi kan drive jordbruk i framtiden. I enkelte områder vil dette slå positivt ut, gjennom en forlenget vekstsesong, mens det i andre områder vil slå negativt ut gjennom mer nedbør eller tørke (IPPC 2014).

I takt med klimaforandringene har interessen for hvordan matproduksjonen påvirker klimaet økt. I 2012 utgjorde utslippene fra landbruket omkring to tredjedeler av det nasjonale lystgassutslippet og rundt halvparten av det nasjonale metanutslippet i Norge (Fløystad & Trötsche 2014). Selv om utslippene av klimagasser fra jordbruket har gått ned siden 1990 på grunn av nedgang i antall storfe, og redusert bruk av husdyrgjødsel har utslippene en stor nasjonal betydning, og utslippene bør reduseres ytterligere (Fløystad & Trötsche 2014).

2.2 Generelt om ernæring og fysiologi hos drøvtyggere

En drøvtygger har i tillegg til den vanlige magen (abomasun) en stor formage som er delt inn i de tre delene vomma (rumen), nettmagen (reticulim) og bladmagen (omasum) (Cecava 1995; Sjaastad et al. 2010) (Figur 1).



Figur 1. Illustrert fordøyelsessystemet til en drøvtygger (Wattiaux & Howard 1999).

I formagen til drøvtyggeren forgår det en omfattende mikrobiell fordøyelse av fôr. De viktigste funksjonene til mikrobene i vomma er 1) fordøyelse av fiber, 2) syntetisering av essensielle næringsstoffer som B-vitaminer og viktige aminosyrer og 3) utnytting av ikke-nitrogen proteinkilder (Miller 2012). I formagen blir næringsstoffene i fôret blandet sammen og fermentert av mikrobene under anaerobe forhold (Sjaastad et al. 2010). Fermenteringen av fôr er fremmet av drøvtygging. I drøvtyggingen blir deler av fôret gulpet opp fra vomma og tygd på nytt før den svelges igjen. Dette gjør fôrpartiklene mindre slik at de får en relativt sett større overflate som mikrobene kan feste seg på, noe som fremmer fermenteringen og fordøyelsen av fôret i vomma (Miller 2012; Sjaastad et al. 2010). Et resultat av denne fermenteringen, er at dietten omdannes til ulike produkter; flyktige fettsyrer (VFA), metan (CH_4), karbondioksid (CO_2), mikrobeprotein, ammonium og nitrat (Church 1988). Flyktige fettsyrer er endeproduktet etter den mikrobielle fermenteringen av karbohydrater i vomma. De viktigste er eddiksyre, smørsyre og propionsyre, og disse utgjør den viktigste energikilden til en drøvtygger. For at mikrobene i vomma skal være effektive er de avhengig av et særlig gunstig livsmiljø, der det hele tiden er god tilgang på næring. Dette fremmer en god fermentering (Hungate 2013). I følge Hoover og Miller (1991) er drøvtyggere i tillegg helt avhengig av et godt vommiljø for å sikre en god strøm av mikrobeprotein fra vomma til tynntarmen. Mikrobeprotein produsert av mikrobene i vomma er den viktigste proteinkilden

til en drøvtygger. En god fermentering med høy produksjon av VFA og mikrobeprotein sikrer dermed en mest mulig optimal utnyttelse av fôret. Dette skjer når sammensetning av stivelse, cellulose og nitrogen i vomma er balansert og miljøet godt for mikrobevekst. Mikrobene i vomma er sammensatt av flere typer bakterier som har spesialisert seg til fermentering av ulike næringsstoffer i fôret. Syrene som produseres i vomma forårsaker et surt miljø i vomvæsken og de fleste mikroorganismene håndterer ikke lav pH i vomma. For å motvirke lav pH i vom tilfører dyret en buffer til vomvæsken gjennom drøvtygging og spyttproduksjon, og gjennom en kontinuerlig absorpsjon av VFA (Sjaastad et al. 2010). Den ideelle pH verdien i vom er mellom 5,5 til 7 (Cecava 1995). En pH i dette området vil sikre næringsbehovet til mikropopulasjonen og sørge for å opprettholde et godt og levelig økosystem for dem i vomma.

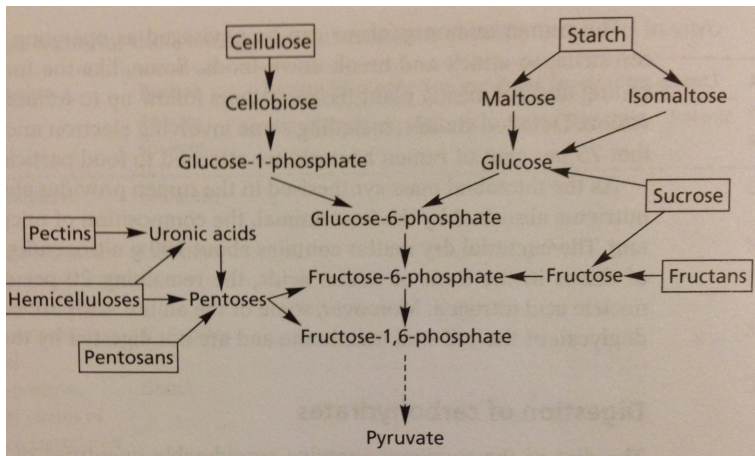
2.3 Bakteriell fordøyelse av hovdenæringsstoff i vom

I vomma finnes det tre hovedgrupper med bakterier; 1) cellulolytiske bakterier, bryter ned cellulose og hemicellulose, 2) amylolytiske bakterier, bryter ned stivelse og 3) proteolytiske bakteriene, bryter ned protein (Sjaastad et al. 2010). I tillegg er det bakteriegrupper for hydrolysering og hydrogenering av fett (lipolytiske bakterier), samt danning av metan (metanogene bakterier). Den bakterielle fordøyelsen av karbohydrater, protein og fett i vom blir omtalt i påfølgende avsnitt.

2.3.1 Karbohydrater

Nedbrytning av karbohydrater kan deles inn i to stadier, 1) komplekse karbohydrater som blir omdannet til enkle sukkerarter og 2) omdannelsen av pyryvat til VFA (McDonald 2002). Dietten til drøvtygger består av store mengder cellulose, hemicellulose, stivelse og ikke-løselige karbohydrater. Heimcellulose er en gruppe polysakkarider som består hovedsakelig av lineære xylose kjeder med ulikt innhold av arabinose, uronic acids og galaktose. Cellulose og hemicellulose blir hydrolysert ved en ekstracellulær frigjøring av disakkaridet xylobiose. Xylobiose blir videre hydrolysert av det intracellulære enzymet xylosidase og danner tilslutt xylose. Xylose hører under monosakkarid gruppen pentose. Cellulose kan også bli nedbryt av en eller flere 1,4-glucosidase til cellobiose (McDonald 2002). Cellobiose blir videre omdannet til glukose eller glukose-1-fosfat. Stivelse blir hydrolysert av mikrobiell amylase til maltotriose (Baldwin & Allison 1983). Det er selve enzymet til bakterien som forårsaker

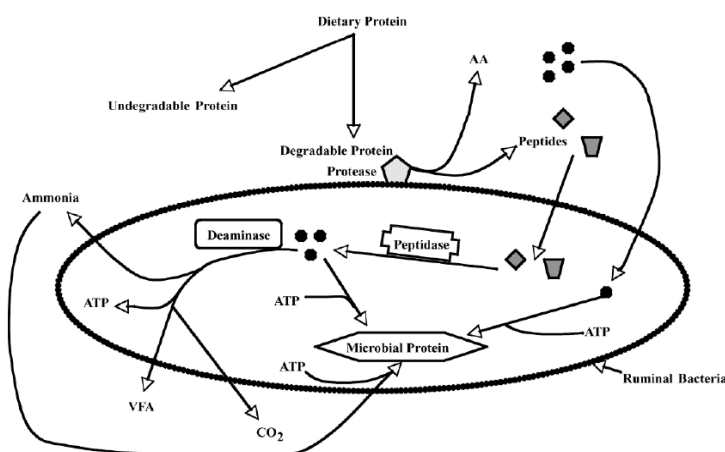
denne nedbrytningen (Sjaastad et al. 2010). Tilslutt står man igjen med monosakkaridet glukose som er det mest vanlige karbohydratet (Figur 2).



Figur 2. Nedbrytningen av ulike karbohydrater til glukose (McDonald 2002).

2.3.2 Protein

Den viktigste nitrogenkilden til mikrobenes stammer fra fordøyelig protein og ikke-nitrogen protein, der fordøyelig protein deles inn i ikke nedbrytbar protein og nedbrytbar protein (Bach et al. 2005). De proteinkildene som kan fordøyas blir i vomma degradert til små peptider, peptiden blir tatt opp av mikrobenes i vomma og omdannet til mikrobielt protein eller ammoniakk (Sjaastad et al. 2010). Det er fra fordøyelig protein og ikke-nitrogen protein mikrobenes får mesteparten av det nitrogenet de trenger. Ikke-nitrogen protein blir i proteinsyntese omdannet til ammoni, aminosyrer og tilslutt protein av mikrobenes (Sjaastad et al. 2010) Metabolismen av fordøyelig protein er vist i Figur 3.



Figur 3. Oversikt over hvordan protein blir brutt ned i vom, og hvordan protein blir omdannet i bakteriene.

2.3.3 Fett

Fett er representert i nesten alle typer fôr, men finnes bare i små mengder. Det totale tørrstoffet i fôret bør ikke inneholde mer enn 5 % fett, høyere konsentrasjoner enn dette kan være skadelig for fordøyelsen av fiber i vomma (Moran 2005). Fett er egentlig lipider som består av langkjedet fettsyrer i fri form eller som triglyserid, disse lipidene vil bli hydrolysert av mikrobene ved hjelp av enzymene lipase, galaktosidas og fosforlipase. Dette fører til dannelsen av umettede fettsyrer, som videre blir hydrogenert til mono-umettede og mettede fettsyrer (Sjaastad et al. 2010). Lipider som kommer seg til duodenum er både fettsyrer fra fôr og fra mikrobene (Jenkins 1993). Lipidene består en lang-kjedete fettsyrer i fri form eller i bundet form av triglyserid eller galaktolipider. De mest vanlige fettsyrene er palmitinsyre (C16:0), oljesyre (C18:1) og linolensyre (C18:2) (Sjaastad et al. 2010). I vomma blir glyserid spaltet til glyserol og frie fettsyrer ved hjelp av hydrolyse, før de transporteres til tynntarmen ved hjelp av ulike fôrpartikler (som de er festet til).

2.4 Produksjon av VFA i vom

Flyktige fettsyrer blir i hovedsak dannet ved fermentering av fordøyelig karbohydrater i vomma. De viktigste karbohydratene er cellulose, hemicellulose, pektin, stivelse og sukker. Disse blir bryt ned til heksosier (hovedsakelig glukose) eller pentose før de blir omdannes til pyrodruesyre (pyruvat). Pyruvat blir igjen omdannet til eddiksyre, smørsyre og propionsyre. I dannelsen av eddiksyre og smørsyre blir Acetyl CoA brukt som et intermediat, mens dannelsen av propionsyre skjer gjennom succinate syntesen (Forbes & France 1993) (se også avsnitt 2.5). Reaksjonene som skjer kan imidlertid bli delt inn i hydrogenproduserende og hydrogenkonsumerende reaksjoner (Moss et al. 2000). Med utgangspunkt i det dominerende karbohydratet, glukose, er reaksjonen som følgende;

Hydrogenproduserende;

Glukose \Rightarrow 2 pyruvat + 4 H⁺ (basert på Emden-Meyerhof-Parnas ruten)

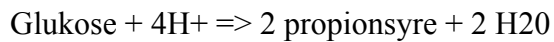
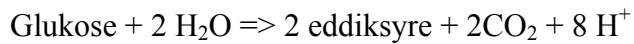
Pyruvat + H₂O \Rightarrow eddiksyre + CO₂ + 2H

Hydrogenkonsumerende;

Pyruvat + 4H⁺ \Rightarrow propionsyre + H₂O

2 Pyruvat + 4H⁺ \Rightarrow smørsyre + H₂O

Basert på glukose vil fermenteringen av glukose gi følgende produksjon av VFA, CO₂ og H⁺;



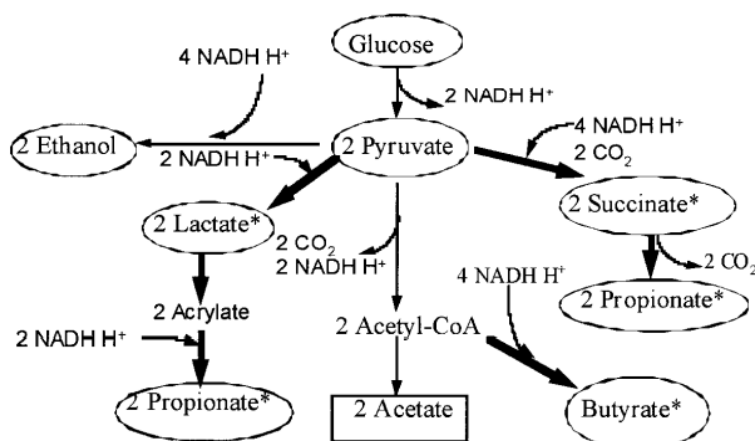
Nettoresultatet av den mikrobielle fermenteringen i vom er imidlertid et overskudd av hydrogen. Dette overskuddet vil bli omdannet til metan ved følgende formel;



Denne reaksjonen vil bli nærmere omtalt i avsnitt 2.5. I tillegg til karbohydrater kan mikrobene bruke fordøyelig protein til produksjon av VFA. Proteinet blir da hydrolysert til aminosyrer og deaminert før de omdannes til VFA (Forbes & France 1993). Mesteparten av VFA som blir produsert blir tatt opp ved absorpsjon over vom-veggen og kun 10-20 % går videre til bladmagen og magen. Absorpsjon over vomveggen skjer ved enkel diffusjon av udisosiert syrer. Denne absorpsjonen er konsternasjons avhengig og er høyest for eddiksyre og lavest for smørsyre (Forbes & France 1993; Sjaastad et al. 2010).

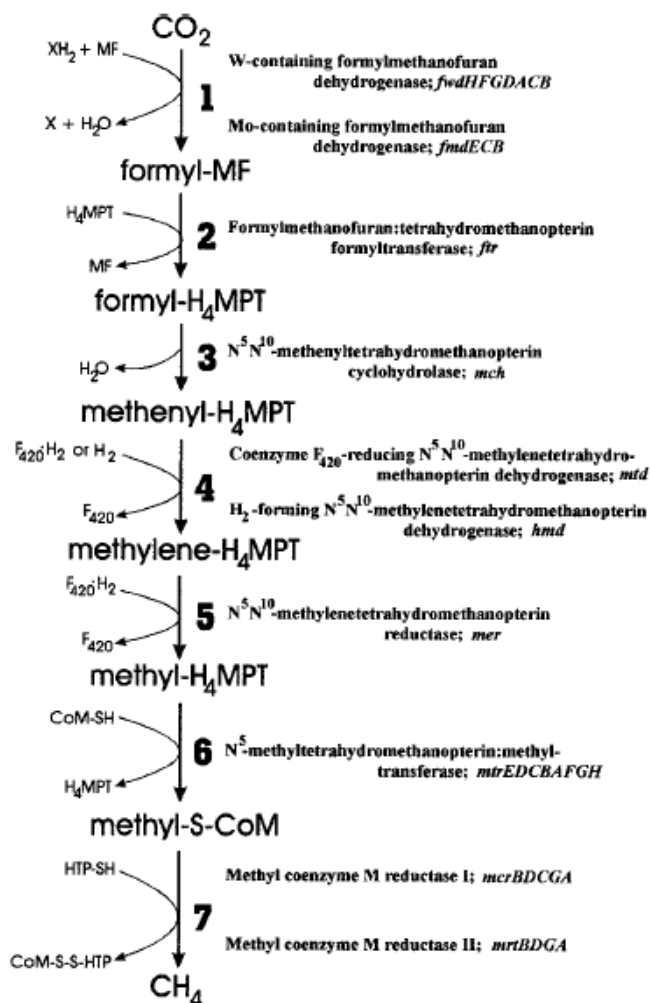
2.5 Dannelsen av metan i vom (Metanogenese)

Metan blir produsert i vomma som er et resultat av at fôr blir fermentert med et overskudd av hydrogen. Hovedårsaken til at metan blir dannet i vomma er å fjerne frie hydrogen molekyl, Dette skjer ved følgende reaksjon; $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ (Moss et al. 2000). Produksjon av metan kan også skje i den nedre delen av fordøyelsessystemet som hos andre dyr, men 89% av all metan som drøvtyggere slipper ut kommer fra vomma og de puster den ut gjennom munn og nese (Murray et al. 1976). Metan blir produsert av *Archaea* bakterier, som tilhører phylumet *Euryarcheota* (Balch et al. 1979). Det er to ting som skjer ved dannelsen av metan; frie H₂ molekyler blir fjernet og NADH blir re-oksidert til NAD. NADH er en redusert kofaktor som dannes ved fermentering av glukose under anaerobe forhold, dette skjer ved Embden-Meyerhof Parnas (Moss et al. 2000). Denne re-oksidasjonen må til for at glukosen skal bli fermentert (Figur 4).



Figur 4. Metabolisme av NADH og dannelsen av VFA (Moss et al. 2000).

Metan blir produsert av metanogene bakterier der de benytter enkle substrate med lavt reduksjonspotensial til metanogenesen (Sirohi et al. 2010). Metanogenese er hvordan metan blir dannet i vomma ved hjelp av metan produserende bakterier. H_2 er hovedfaktoren som driver fram metanproduksjonen i vomma (Morgavi et al. 2010). Ligningen omtalt tidligere (se avsnitt 2.4) omhandler hvordan andelen eddik-, smør- og propionsyrer bestemmer hvor mye H_2 som er tilgjengelig for å danne metan (Alemu et al. 2011). Metanogenesen er en reaksjon med mange sekvenser, de er kompliserte og krever en rekke unike koenzymmer og komplekse enzymer som er membranbundet (Liu & Whitman 2008) (Figur 5). De substratene som metanogene bakterier benytter er CO_2 , metyl-grupper og acetate. Flesteparten av de metanogene bakterier er "hydrogenotrofe", det vil si at de reduserer CO_2 til metan ved bruk av H_2 som elektrondonor. Mange av dem kan også bruke format som elektrondonor. I slike tilfeller vil fire molekylere av format bli oksidert til CO_2 , hvorpå CO_2 vil bli videre redusert til metan (Liu & Whitman 2008). Metanogener som bruker metylgrupper som substrat, henter elektronene som er nødvendig for å reduserer metylgruppene til metan, fra oksidasjon av andre metylgrupper til CO_2 . Disse tre metylgruppene reduseres så til metan for hvert CO_2 molekyl som blir produsert. Fram til nå er det bare funnet to genera som bruker acetat til metanogenesen; Methanosarcina og Methanosaeta. Acetat blir spaltet ved at karboxylgruppene oksideres til CO_2 , videre reduseres metylgruppene og tilslutt blir de omdannet til CH_4 (Liu & Whitman 2008). Generelt sett så er de aller fleste metanogeneske bakteriene i vomma festet til fordøyde fôrpartikler eller til protozoer. (Morgavi et al. 2010).



Figur 5. Biokjemiske reaksjonene som foregår ved metandannelse fra CO₂ (Reeve et al. 1997).

Selv om metanogenesen er en veldig viktig del av funksjonen til vomma for å fjerne hydrogen finnes det også andre metoder. Et alternativ er å øke produksjonen av propionsyre og smørsyre. En generell regel er at det er en invers reaksjon mellom produksjonen av metan og propionsyre i vomma (Mathison et al. 1998).

2.5.1 Metanogene bakterier

I vomma er det funnet fem ulike slekter av metanproduserende bakterier, disse er Methanobrevibacter, Methanobacterium, Methanomicrobium, og Methanosarcina (Baker 1999). Det finnes mange metanogene bakterier i vomma, noen eksempler er *Methanosarcina* sp., *Methanomicrobium* sp., *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter* sp., og *Methanobacterium formicium* (Stewart 1991). Det er bakteriene *Methanobrevibacter ruminantium* og *Methanosarcina barkeri* som har størst betydning for metanproduksjonen ved at de har en populasjon på 10⁶ per ml vomvæske (Lovley et al. 1984). De metanogene

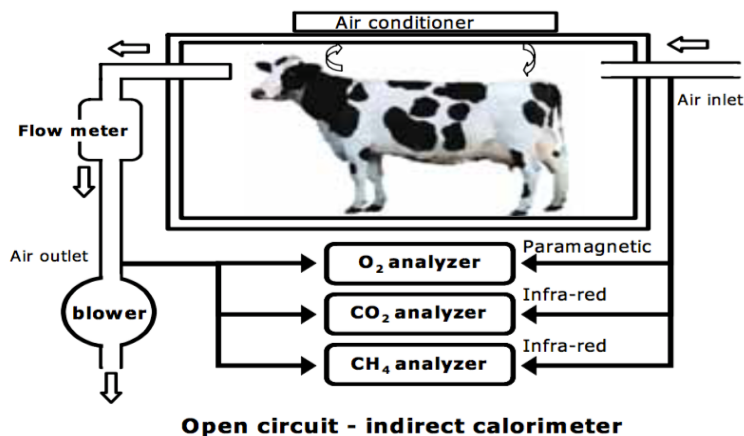
bakteriene skiller seg fra andre bakterier ved at de har pseudomurein i celleveggen, og at lipider i cellemembranen består av isoprenoids som enten er bundet til glycerol eller andre sukkerarter (Baker 1999). For å kunne danne metan er bakterien helt avhengig av tre spesielle koenzymmer; 1) koenzym F-420, er involvert i elektronoverføringen, 2) koenzym M, er involvert i overføring av metylgrupper og 3) koenzym B som har en lav molekylvekt, blir inaktivert av oksygen og er varmemestabil, er involvert i den avsluttende prosessen av metanproduksjon (Kumar et al. 2009). Metanogene bakterier er kjent for å ha et symbiotisk forhold til andre mikroorganismer ved overføring av hydrogen. Mest kjent er forholdet til protozoer hvor de kan assosiere både intracellulært og ekstracellulært (Sharp et al. 1998).

2.6 Metoder for å måle metan

Måling av metan fra drøvtyggere har foregått siden 1879, men inngikk den i bestemmelsen av energibalansen til dyret (Blaxter 1962). Metanmåling i forhold til klimagassutslipp ble ikke aktuelt før senere. I senere studier har det blitt utviklet en rekke ulike metoder for å måle metanutslipp. Noen av de mest vanlige metodene er gasskammer, SF₆. CO₂-metoden, samt mikrometrologiske metoder og ikke-mikrometrologiske metoder.

2.6.1 Gasskammer

Prinsippet med gasskammer er å samle all luft som kommer fra dyret (rektalt og utånding) og måle konsentrasjonen av metan. I et gasskammer blir metanutslipp målt ved å undersøke forholdet mellom luft som kommer inn i kammeret, og luft som blir transportert ut. Forskjellen mellom utgående luft og inngående luft blir da målt som metanutslippet fra dyret (Storm et al. 2012). Metoden går ut på at frisk luft blir trukket inn i kammeret, fra miljøet, innhold av metan vil bli målt ved hjelp av sensorer. Samtidig vil en pumpe sørge for at luften fra kammeret blir ført gjennom en flow måler og ulike sensorer som måler konsentrasjonen av de ulike gassene (Brown et al. 1984) (Figur 6).



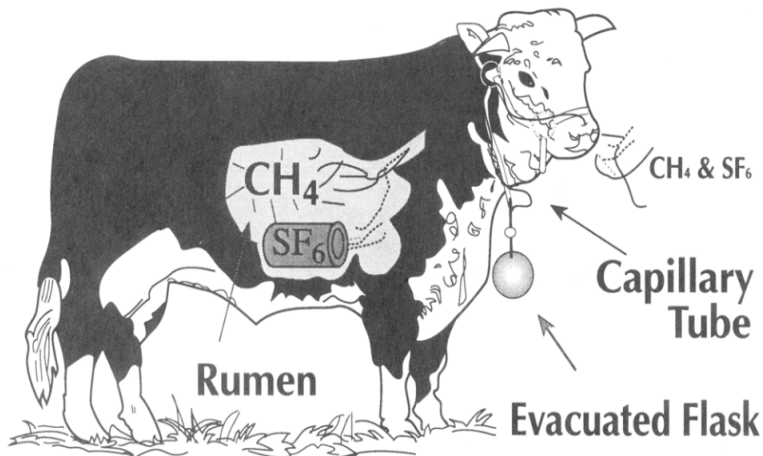
Figur 6. Illustrasjon av et åpent respirasjonskammer (Bhatta et al. 2007)

I noen systemer er det en mulighet til å kontrollere og påvirke luften som kommer inn ved at den først går gjennom et aircondition-anlegg. Denne metoden blir regnet som standardmetoden for estimering av metanutslipp fra drøvtyggere, dette fordi man kan opprettholde et kontrollert miljø, samt måle påliteligheten til instrumentene (Johnson & Johnson 1995). Ulempen er at det skaper et kunstig miljø, dyret kan ikke oppføre seg som normalt og det hindrer dyrets bevegelse, dette kan påvirke dyrets fôropptaket noe som videre vil påvirke dyrets produksjonen av metan (Storm et al. 2012).

2.6.2 SF₆ markørmetoden

Bruk av SF₆ som markør for å måle utslipp av metan ble oppfunnet av Zimmerman i 1993. Metoden ble tatt i bruk for første gang av Johnson et al. (1994). SF₆ som markør er en ikke-isotopisk sporings teknikk og går ut på at du legger en kapsle som inneholder SF₆ med en kjent frigjøringsfase ned i vomma (Figur 7). SF₆ er en inert gass som blir brukt som en markør, antagelsene går ut på at utslippet av SF₆ simulerer utslippet av CH₄ (Johnson et al. 2007). Deretter blir utånding fra munn og nese fanget opp ved hjelp av en grime med et kapillarrør system som er festet til evakuert oppsamlings beholder, vanligvis laget av PVC rør. Luften fra utånding blir fanget opp ved at undertrykket i oppsamlings beholderen forårsaker en jevn tilstrømming av luft gjennom systemet med kapillarrør. Oppsamlingen av luft kan reguleres gjennom ulik lengde og diameter av kapillarrøret (Johnson & Johnson 1995). Etter at måleperioden er over (vanligvis 24 timer), blir det tilsatt nitrogen i oppsamlings beholderen, tatt ut gassprøver, og analysert for innhold av SF₆ og CH₄ ved gasskromotografi. Fordelen med denne teknikken er at dyret kan bevege seg fritt og bli

benyttet på dyr som beiter. Ulempen er at den kan gi varierende resultater og at den ikke måler metan som kommer fra tarmen (Johnson & Johnson 1995).



Figur 7. Illustrasjon av SF₆ teknikken (Johnson et al. 1994).

Tidligere studier har sammenlignet gasskammer og SF₆ metoden (Grainger et al. 2007; Pinares-Patiño et al. 2008a), og de viser til at gjennomsnittlige produksjon stemmer godt overens i de fleste tilfellene. Den største forskjellen mellom disse metodene er at SF₆ gir større variasjoner mellom målinger, og innenfor hvert enkelt individ. Grainger et al. (2007) fant et gjennomsnittlig utslipp på 322 g/dag ved bruk av kammer og 331 g/dag ved bruk av SF₆ teknikken. Dette kan tyde på at SF₆ teknikken overestimerer metanutslipp fra drøvtyggere. I et studie gjort av McGinn (2006) ble miljøet gjort likt ved at måling av metan ved bruk av SF₆ ble utført samtidig som dyret var inni gasskammeret. Dette forsøket gikk ut på at dyret ble føret med flere ulike dietter, og resultatet var SF₆ teknikken var mest presis når føret inneholdt en høy andel grovfôr. Noe som kan tyde på at SF₆ teknikken vil gi et nokså riktig estimat av metanutslipp når dyret beiter eller har en rasjon som nesten utelukket består av grovfôr.

2.6.3 Andre metoder

I senere tid har det også blitt utviklet andre metoder for å måle metanutslipp fra drøvtyggere, eksempler er CO₂ metoden, mikro-metrologiske metoder og ikke mikro-metrologiske metoder. Der de mikrometrologiske og ikke-mikrometrologiske metodene er mest vanlig å bruke i fjøs eller andre store områder. CO₂ metoden basere seg på de samme prinsippene som SF₆ metoden, forskjellen er at CO₂ blir brukt som markør (Madsen et al. 2010). Metoden går ut på at du måler ratioen av CH₄/CO₂ i luften fra dyret regelmessig og kombinerer det med å bergene total produksjonen av CO₂ fra dyret (Storm et al. 2012). Årsaken til at dette er at

konsentrasjonen av CO₂ og CH₄ som kyr puster ut er henholdsvis 100 og 1000 ganger høyere enn den atmosfæriske luften (Storm et al. 2012). Denne metoden er ideell å benytte i låver og ved automatisk melksystem. Ikke-mikrometrologiske metoder er basert på bruk av forholdet mellom eksterne markører eller massebalanse (Harper et al. 2011). Mikrometrologiske metoder måler vindhastighet og konsentrasjonene av metan for et spesifikt område og utfra det kalkuleres metanutslippet. Det gjøres ved å sette opp mange målepunkter. Selve utregningen av metanutslipp varierer etter hvilken metode som blir brukt (Storm et al. 2012).

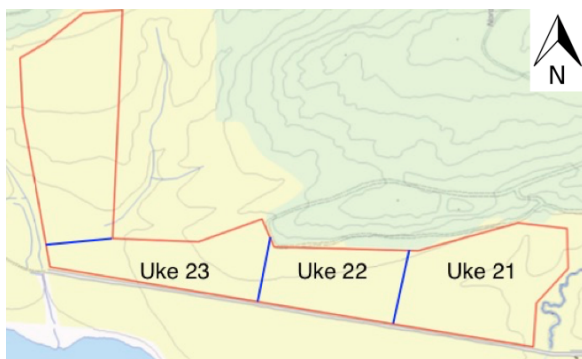
3.0 Material og metode

3.1 Beskrivelse av forsøket og område

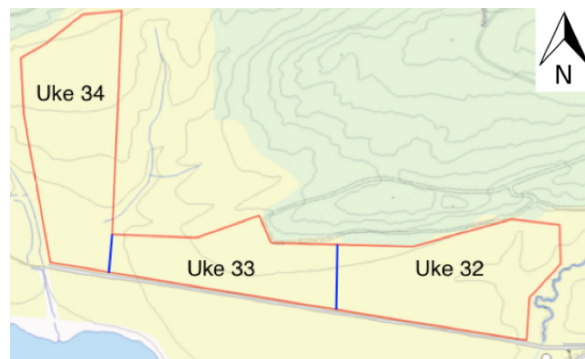
Forsøket ble utført på sommerbeite til Senter for husdyrforsøk, ved NMBU. Sommerbeite og sommerfjøset er lokalisert sør-øst for Årungen i Ås kommune. I forsøket ble det bruk 24 kyr av rasen norsk rødt fe (NRF), der 12 av kyrne inngikk i metanforsøket. Forsøket ble delt inn i to perioder, en om vår/forsommeren (Periode 1) og en om seinsommeren (Periode 2).

Beiteareal ble bestemt utfra antall dyr og forventet vekst av gress i hver periode. Det ble tatt i bruk et beiteareal på ca. 45 og ca. 70 dekar i henholdsvis Periode 1 og Periode 2. For hver periode ble arealet delt inn i tre områder basert på forventet arealbehov for en uke. Videre ble de tre ulike områdene delt inn seks områder. De seks områdene ble til slutt fordelt tilfeldig på tre beiterogimer med to gjentak innen hvert regime. De tre beitemetodene var; (Metode 1) skiftbeite, kyrne hadde tilgang på hele arealet, (Metode 2) stripebeiting 1, kyrne fikk tilgang til en stripe hver dag uten tilgang på gammelt areal, (Metode 3) stripebeiting 2, kyrne fikk tilgang til en ny stripe hver dag og tilgang til det som var gitt tidligere. En nærmere beskrivelse av beitearealene er gitt i Figur 8, mens en nærmere beskrivelse av beiteopplegget og utføring av det er gitt i Figur 9.

a)



b)



Figur 8. Oversikt over beite og beitearealet. a) Areal brukt i Periode 1, der uke 21 er tilvenningen, uke 22 og 23 er forsøksuker. b) Areal brukt i Periode 1, der uke 21 er tilvenningen, uke 22 og 23 er forsøksuker.

Metode 1)



Metode 2)



Metode 3)



Figur 9. Kyrnes beite i forhold til de tre ulike metodene: (Metode 1) kyrne hadde tilgang på hele arealet (Metode 2) stripebeiting 1, kyrne fikk tilgang til en stripe hver dag (Metode 3) stripebeiting 2, kyrne fikk tilgang til en ny stripe hver dag og det som var gitt tidligere.

3.2 Beskrivelse av dyr og beiteareal

De 12 forsøksdyrene som ble brukt i metanforsøket var i tredje laktasjon, med unntak av ei ku som var i fjerde laktasjon. Kua i fjerde laktasjon (ku nr. 5443) ble på grunn av lav melkeytelse byttet ut med ku 5928 (var i første laktasjon) mellom først og andre periode i forsøket (Tabell 1). Ved oppstart av forsøket i mai var kyrne 147 ± 50 dager i laktasjon og ytelsen var 32 ± 10 kg melk per dag. For andre perioden var kyrne 219 ± 49 dager ute i laktasjonen og melkeytelsen var redusert til 21 ± 5 kg melk per dag.

Tabell 1. Oversikt over kyr benyttet i forsøket i henholdsvis Periode 1 og Periode 2, med ku nummer, kalvings dato, antall dager i laktasjon og laktasjonsstadium.

| Ku nr. | Kalvings dato | Periode 1 | | Periode 2 | |
|--------|---------------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|
| | | Dager i laktasjon | Laktasjon | Dager i laktasjon | Laktasjon |
| 5443 | 03.11.2013 | 197 | 4 | | |
| 5575 | 09.11.2013 | 191 | 3 | 268 | 3 |
| 5577 | 26.12.2013 | 144 | 3 | 221 | 3 |
| 5599 | 14.01.2014 | 125 | 3 | 202 | 3 |
| 5600 | 26.11.2013 | 174 | 3 | 251 | 3 |
| 5647 | 20.12.2013 | 150 | 3 | 227 | 3 |
| 5650 | 08.01.2014 | 131 | 3 | 208 | 3 |
| 5651 | 01.01.2014 | 138 | 3 | 215 | 3 |
| 5656 | 01.01.2014 | 138 | 3 | 215 | 3 |
| 5675 | 02.12.2013 | 168 | 3 | 245 | 3 |
| 5677 | 24.01.2014 | 115 | 3 | 192 | 3 |
| 5685 | 11.02.2014 | 97 | 3 | 174 | 3 |
| 5928 | 06.01.2014 | | | 210 | 1 |

Plantartene i beitearealet bestod for det meste av timotei (ca. 60%) blandet med engsvingel og raigress (ca. 17 %), samt noe innslag av rapp, kløver, reverumpe og kveke. Selve området der beite ligger er nokså åpent, men grenser til en granskog i øvrekant. Beitet ligger i en svak helling ned mot Årungen. Før forsøket startet i mai var det relativt lite nedbør, utenom enkelte dager, og temperaturen var ikke over normalen. Dette førte til gode vekstvilkår og gresset vokste raskt. Under Periode 1 var det lite nedbør, og middels temperaturer på dagtid og lavere om natten. De lave temperaturene om natten førte til at gresset lagret mye fuktighet. Lagring av fuktighet og en god gjennomsnittlig temperatur førte til at gresset fortsatte å vokse selv om det var lite nedbør. Mellom periodene var det varmt og lite nedbør, særlig i juli. Dette gjorde at beiteområde måtte vannes for at gresse i det hele tatt skulle vokse. Under Periode 2 var det lave temperaturer med mer nedbør enn i Periode 1, spesielt i første forsøksuke (Vedlegg 1).

3.3 Opplegg og gjennomføring av forsøket

Forsøket var som nevnt delt inn i to perioder. Første periode foregikk fra 19.mai til 08.juni, vår-/forsommerbeite og andre periode foregikk fra 04-23. august, seinsommerbeite. Forsøket foregikk i 2014. Hver periode gikk over tre uker, der første uke var en tilvenningsuke.

Prøvetaking av beitegress ble startet på dag 1 av forsøket, i tillegg til måling av grashøyde og avlingsmengde ble det tatt ut prøver av botanisk sammensetning og analyse av kjemisk innhold (næringsverdi). Prøvetakingen av kyrne startet i uke to. En fullstendig oversikt over prøvetaking fra Periode 1 er vist i Tabell 2. I Periode 2 ble prøvetaking utført likt som Periode 1, men det ble tatt færre prøver grunnet kortere forsøksperiode. Årsaken til dette var dårlig tilvekst av gress som gjorde det nødvendig å kutte ned antall prøvedager fra 7 til 5 dager. Melkemengden ble registrert daglig, og prøver for fastsetting av kjemisk innhold i melk ble tatt separat morgen og kveld fra dag 8. For beregning av fordøyelighet ble det gitt en markør (C-³²- n-alkan) oralt hver morgen og kveld fra dag 4. Uttak av gjødselprøver ble gjort gjennom rektalisering av kyrne morgen og kveld fra dag 8. Dyrene ble veid en dag hver uke (dag 1, 8, 15 og 21). På grunn av mangel på utstyr til oppsamling av metan ble det ikke utført daglig målinger. Målingen av metan ble utført annenhver dag. Nærmere beskrivelse av de ulike registreringer og prøvetaking av metan er gitt i eget avsnitt. Utstyret som ble brukt til oppsamling av metan består av en oppsamlingsbeholder for gass (yoken) og en grime med et kapillarrør (Figur 11). Når yoken blir koblet til grimen vil undertrykk som er lagret inni den bli frigjort sakte, og luft som er rundt munnen og nesen til kua vil bli samlet opp ved en konstant hastighet over 24 timer.

Tabell 2. Oversikt over alle prøvetakinger utført i Periode 1.

| Areal | Dag | Uttak av gressprøve for | | | | | Gjødselprøve | Dosering av n-alkan | Kraftfôrprøve | Melkeprøve | Vektmåling av kyr | Måling av CH ₄ ² |
|-------|-----|-------------------------|---------------------|---------------------|---------|---------------------|--------------|---------------------|---------------|------------|-------------------|--|
| | | Høyde | Avling | Botanikk | n-alkan | Kjemisk analyse | | | | | | |
| | -4 | X | X | | | | | | | | | |
| 1 | -3 | | | | | | | | | | | |
| 1 | -2 | | | | | | | | | | | |
| 1 | -1 | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 | X | X | X | | X | | | | X (am) | X | |
| 1 | 2 | X | X | | | | | | | | | |
| 1 | 3 | | | | | | | | | | | |
| 1 | 4 | X | X | | | | | 2X | | | | |
| 1 | 5 | X | X | | | | | 2X | | | | |
| 1 | 6 | | | | | | | 2X | | | | |
| 1 | 7 | X | X | | | | | 2X | | | | |
| 2 | 8 | X (X ¹) | X (X ¹) | X (X ¹) | X | X (X ¹) | | 2X | X | X(pm) | X | X |
| 2 | 9 | X | | | X | | 2X | 2X | X | X (am) | | X _y |
| 2 | 10 | X | | | X | | 2X | 2X | X | | | X |
| 2 | 11 | X | | X | X | X | 2X | 2X | X | X(pm) | | X _y |
| 2 | 12 | X | | | X | | 2X | 2X | X | X (am) | | X |
| 2 | 13 | X | | | X | | 2X | 2X | X | | | X _y |
| 2 | 14 | X | X | X | X | X | | 2X | X | X (am&pm) | | X |
| 3 | 15 | X (X ¹) | X (X ¹) | X (X ¹) | X | X (X ¹) | | 2X | X | X (pm) | X | X _y /X |
| 3 | 16 | X | | | X | | 2X | 2X | X | X (am) | | X _y |
| 3 | 17 | X | | | X | | 2X | 2X | X | | | X |
| 3 | 18 | X | | X | X | X | 2X | 2X | X | X (pm) | | X _y |
| 3 | 19 | X | | | X | | 2X | 2X | X | X (am) | | X |
| 3 | 20 | X | | | | | 2X | | X | | | X _y |
| 3 | 21 | X (X ¹) | X (X ¹) | X (X ¹) | | X (X ¹) | | | | X (am&pm) | X | X/ X _y |

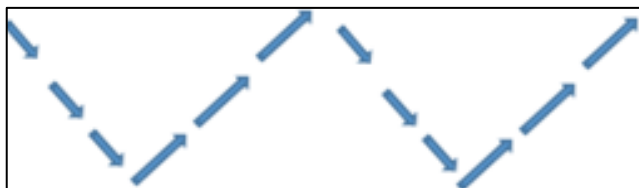
¹ X prøver: Tatt etter at kyrne har beitet ferdig.

² CH₄ måling; Starter ved X og avslutte ved X_y.

3.4 Uttak av prøve og analyse

3.4.1 Registrering av beitekvalitet og opptak av gress

Estimering av melkekyrnes opptak av gress ble utført ved å registrert gresshøyde og avling ved ulike dager før og etter beiting. I tillegg ble det tatt prøver av gresset for kjemisk analyse og til botanisering (Tabell 2). Uttak av prøver til kjemisk analyse av gress ble tatt før, midt i og etter hver forsøksuke. Dette ble gjort for å se hvordan sammensetningen i gresset endret seg. Høyden på gresset ble målt ved hjelp av en gresshøydemåler. Antall høydemålinger ble valgt med hensyn til beitemetode. Høydemåling ble utført ved at gresshøyden ble målt før kyrne ble sluppet inn på beite, i midten av hver forsøksuke og etter avslutning av hver forsøksuke. Bestemmelse av over mye avling som ble spist, ble bestemt utfra forholdet mellom starthøyde til gresset og sluthøyde, i hver forsøksuke. Til dette ble W-transekt metoden benyttet (Figur 10) (Barthram 1986). Ved botanisering ble hver enkelt prøve sortert best mulig etter art, dødt material og en restfraksjon. For måling av avling ble den totale plantemassen høstet fra 2 tilfeldige plasser i hver paddock med målt gresshøyde. Gresset ble klipt ned til omtrent 4 cm i en rute på 50x100 cm. Gressprøver etter botanisering og fra kjemiskanalyse ble tørket i et tørkeskap på 60°C i 48 timer. Etter tørking ble prøvene malt gjennom en 1 millimeter sold og oppbevart for analyse. Prøver til kjemiskanalyse ble sendt til Eurofins, avdeling Moss for analyse av tørrstoff, råprotein, løselig råprotein, NDF (neutral detergent fiber), OMD (fordøyelighet av organisk material), NEL 20 (MJ/kg DM) og AAT 20 (g/kg DM). Prøver av gress som skulle til n-alkan analyse ble fryst rett etter innsamling. Prøvene ble deretter frysetørket og kvernet gjennom 1 millimeter sikt før analyse av n-alkan. N-alkan analysene ble utført ved The Jamse Hutton Institute av Bob Mayes etter metoden beskrevet av Dove og Mayes (2005), som er en forbedring av metoden til Mayes et al. (1986).



Figur 10. Oversikt over w-transekt metoden benyttet ved utakk av gressprøver, hvor man først går ti skritt i en retning, før så og gå i den andre retning inntil man har dekket arealet.

3.4.2 Tildeling av markør og beregning av fordøyelighet

Kyrne fikk tildelt en ekstern markør i form av C₃₂-alkan, som er dotriakontan i papirpellets. Den kjemiske formelen er CH₃(CH₂)₃₀CH₃. Denne markøren ble gitt to ganger daglig i 15 dager. For å kunne beregne fordøyeligheten basert på C₃₂-alken ble det tatt gjødselprøve fra hver enkelt ku fra dag 9 til dag 13 i uke 2 og dag 16 til dag 20 i uke 3 (Periode 1), tilsvarende prøver ble også tatt i Periode 2. Gjødsleprøvene ble tatt morgen og kveld etter melking. Uttak av gjødselprøve ble gjort enten ved rektalisering av melkekyrne rett etter melking, eller ved oppsamling av frivillig avføring i forbindelse med melkingen. Etter prøvetaking ble gjødselprøven for hver enkelt ku delt i to der den ene skulle analyseres for n-alkan og den andre for total innhold av nitrogen (ikke behandlet videre). Gjødselprøvene fra hver ku sendt til n-alkan analyse ble slått sammen til en samle prøve for hver uke, ved å ta 15 gram prøve fra hver enkel gjødselprøve. Gjødselprøvene ble deretter frysetørket, malt og analysert for n-alkaner som beskrevet for gressprøvene

3.4.3 Melkemengde og kvalitet

Melkemengde ble for hver enkelt ku registrert morgen og kveld gjennom hele Periode 1 og Periode 2. Melkingen foregikk mellom kl. 07.00-09.00 om morgenen og 16.00-18.00 om kvelden. Det ble tatt 13 melkeprøver fra hver enkelt ku i hver periode (Tabell 2). Under hver melkeprøvetaking ble det tatt to paralleller der det ble tilsatt bronopol for konservering i en prøve. Denne prøven ble lagret kjølig (under 4°C) før den ble sendt til Tine for analyse av fett, protein, laktose, urea og frie fettsyrer (FFA) ved hjelp av FTIR (standard melkekvalitetsanalyse). Den andre prøven ble fryst og oppbevart som reserveprøve.

3.4.4 Registrering av metan

Produksjon av metan fra vomma til kua ble målt ved hjelp av SF₆ metoden til (Johnson et al. 1994). Denne metoden går ut på at en kapsel med kjent frigjøring av SF₆-gass blir plassert ned i vomma og brukt som en referanse (markør) for beregning av mengde metan produsert. Gassene frigjort fra vom blir fanget opp ved hjelp av en spesiallaget grime og en yoke tilknyttet utåndingen fra dyret (Figur 11). Kapselen med kjent utskilling av SF₆ ble lagt ned i vomma 2 uker før prøvetaking startet. Dette ble gjort fordi frigjøringen av SF₆ og dermed konsentrasjonen i utåndingsluften må være på et "steady state" nivå ved oppstart av prøvetaking. Frigjøringsraten (releasing rate) av SF₆ til hvert kapsel ble bestemt før inkubering i vom og er forutsatt uendret gjennom forsøksperioden. Bestemmelsen av

firgjøringsraten ble gjort ved å tilsette hver kapsel med 260-300 mg SF₆ (skjer ved flytende nitrogen temperatur) og oppbevare dem i varmeskap ved 39 ° C. Kapslene ble deretter veid regelmessig til det oppnås en nøyaktig tapsprosent, som da er firgjøringsraten. Frigjøringsrate blir kontrollert av en gjennomtrengelig teflon membran, den holdes på plass av en messing mutter, type Swagelok.



Figur 11. Ku med oppsamlingsutstyr for måling av metanutslipp. Foto Anne de Boer.

Klargjøring av utstyr til måling av CH₄ ble gjort i Stoffskiftefjøsset dagen før det skulle settes på eller om formiddagen (når oppstart av måling var om ettermiddagen). Før hver oppstart av måling måtte yokene (gassbeholderen) bli tømt for gass, renses og tilført et undertrykk. Rensing av yokene ble gjort ved å tilføre nitrogen med trykk på to bar i 10-15 sekunder. Yokene ble deretter tømt for gass og rensingen ble gjentatt 3 ganger. Deretter ble yokene tilført et undertrykk ved hjelp av en vakuumpumpe. Riktig undertrykk er oppnådd ved -13 til -14 psi (pounds per square inch). Før oppstart av en 24 timers måling ble vakuumtrykket målt som psi og Hg (mm kvikksølv) ved hjelp av et manometer. Etter oppsamlingsperioden ble trykket igjen målt i psi og Hg. Ideelt trykk etter oppsamlingen skal være mellom 3 og 5 psi. Et lavere trykk antyder en lekkasje, og et trykk på over 5 psi antyder på en blokkering i slangen. Etter trykkmåling ble det i hver enkelt yoke gitt et overtrykk på ca. 1 bar med N₂ (justert til 15-20 psi). Etter tilsettingen av nitrogengassen ble yokene ikke rørt før minimum 45 minutter hadde gått, slik at de ulike gassene skulle blande seg godt inni yoken. Deretter ble det tatt ut en gassprøve fra yoken med en 25 ml sprøyte (BD Plastipak®) og en tynn sprøytespiss (BD Microlance™ 3, 0,5x16mm). Det ble tatt tre parallelle prøver fra hver yoke på 20 ml som ble overført til 10 ml vakuumerte glass (CHROMACOL LTD), ved hjelp av sprøyten, merket med prøvenummer.

I tillegg til oppsamling av metan fra de 12 kyrne ble det også tatt prøver av luften (bakgrunns verdier) for metan og eventuell SF₆. Bakgrunns verdier ble tatt fra to ulike steder i beiteområdet. Produsert CH₄ per døgn ble beregnet basert på prøveresultatet korrigert for CH₄ og SF₆ som finnes naturlig i luften.

Analyse ved gasskromotografi

Gassprøvene ble analysert ved Institutt for miljøvitenskap (IMV) ved NMBU. Prøven ble analysert ved hjelp av gasskromotografi modell 7890A Agilent (Santa Clara, CA, US). Dette apparatet har tre ulike detektorer. En flame ionization detector (FID) som analyserer metan, en electron capture detector (ECD) som analyserer N₂O og SF₆, samt en thermal conductivity detector (TCD) som analyserer CO₂. Det ble benyttet to standere av samme type som referansepunkt for gassmålingene i hver enkel prøve. Konsentrasjonen i standarden var 128 PPT for SF₆, 328 PPB for N₂O, 1029,4 PPM for CO₂ og 52,3 PPM for CH₄. Ved start ble det tatt to prøver fra standeren, videre ble det tatt to prøver etter hver helium (He) prøve, hver analyse sekvens ble avsluttet med 2 standard prøver. For hver tolvte prøve ble det kjørt en rense prøve av helium. Gasskromotografen brukte en 30m bred kolonne av typen Poraplot Q (0.53 mm), ved 38°grader, til analyse. Bæregassen var He. Selve gasskromotografen var koblet til en automatisk prøveopptaker via en peristaltisk pumpe (Gilson minipuls 3, Middleton, W1, USA). Fra hver prøve ble det tatt ut rundt 2,5 ml gass som ble analysert. Gasseprøven ble sendt til en oppsamlingssløyfe før selve analysen starter. Etter hver prøve ble injeksjonssystemet tilbakespylt med helium i seks minutter for å minimere forurensning av gass fra forutgående prøve (Nadeem et al. 2013). En mer detaljert beskrivelse av analysen og injeksjonssystemet er gitt av Molstad et al. (2007).

3.4.5 Øvrige målinger

Kraftfôr

Daglig tildeling av kraftfôr i Periode 1 var 5 kg pr. ku, mens tildelingen i Periode 2 var 4 kg pr. ku. Det ble tatt prøve av kraftfôr etter ett eget skjema med frekvens som vist i Tabell 2. Hvert uttak var på 0,5 kg og prøvene ble slått sammen til en samleprøve for hver uke. Samleprøven ble sendt umalt til Eurofins i Moss for en analyse av tørrstoff, fett, protein og stivelse.

Vekt

Kyrne ble veid før hver periode og etter hver avsluttende forsøksuke, dvs. 4 ganger i hver periode.

3.5 Statistikk

Statistiske analyser ble gjort med dataprogrammet SAS versjon 9.4 (SAS 2011).

Signifikansnivået ble satt til 0,05 og tendens ved p-verdi mindre enn 0,10. Det ble brukt prosedyren Proc Mixed til å teste om forklaringsvariablene hadde en signifikant effekt på responsvariablene. Denne prosedyren analyserer modeller med faste og tilfeldige effekter. Ledd, blokk og uke ble definert som faste effekter, mens ku var tilfeldig effekt.

Responsvariablene var: metan, produksjonen av melk og EKM, produksjon og innhold av fett, protein og laktose, urea og frie fettsyrer (FFA) i melk. For responsvariabler med flere målinger innen ku ble disse definert som gjentatte målinger med "repeated" statementet i proc Mixed". Alle middelerverdier innen behandlingene er presentert som "LSmeans" og variasjonen oppgitt som standardfeilen på "LSmeans". Modellen som ble brukt var:

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

Der;

Y_{ijkl} = Produksjon av CH₄, melk, EKM og tørrstoff opptak, ved ku nr i , ledd j , blokk k og prøve l .

μ = gjennomsnittlig produksjon av CH₄ eller EKM

a_i = tilfeldig effekt av ku

β_j = fast effekt av ledd

γ_k = fast effekt av blokk

δ_l = fast effekt av prøve

ϵ_{ijkl} = tilfeldig feil

3.6 Beregninger

Mengde metan i gram per dag ble beregnet ved hjelp av følgende ligningen (Johnson et al. 2007):

$$Q_{CH4} = \frac{Q_{SF6} \text{ ml/dag} \times ([CH4 \text{ yoke ml/l}] - [CH4 \text{ blank ml/l}])}{(SF6 \text{ yoke ml/dag}) - (SF6 \text{ blank ml/l})}$$

Der;

QCH_4 = mengden metan produsert (l/dag),
 QSF_6 ml/ dag = utslipp av SF₆, CH₄ yoke
 ml/l = konsentrasjon av CH₄ i yoke,
 CH₄ blank nl/l = konsentrasjon CH₄ i referanse yoke,
 SF₆ yoke ml/dag = konsentrasjon av SF₆ i yoke og
 SF₆ blank nl/l = konsentrasjon av SF₆ i referanse yoke

Beregning av energikorrigert melk (EKM) ble utført ved hjelp av følgende ligningen (Volden 2011):

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

Der innhold av fett, protein og laktose kommer fra analyserte melkeprøver.

Beregnet opptak av beitegress basert på høyde måling ble utført ved hjelp av følgende formel (A. K. Sagaye pers. medd):

$$DMI = \frac{(A + (a \times n)) - D}{n \times c}$$

Der;

DMI = opptak av fôr i kg per dag for hver enkelt ku

A = tilgjengelig avling på dag 1

a = daglig vekst av gresset i kg/dag

n = antall beitedager av området

D = avling som er igjen etter beiting

c = antall kyr

Dagsbehovet for energi ble beregnet ved hjelp av følgende formel (Volden 2011) :

$$\text{Behov MJ per dag} = \text{energ} \square \text{ til vedlikehold} + \text{energi til EKM produksjon} \pm \text{energi deponering eller mobilisering}$$

På grunn av stor variasjon og usikkerhet om vekt fra uke til uke ble energi til deponering og mobilisering fjernet fra beregningene om behov, mens et gjennomsnitt av de fire vektmålingene ble brukt til å beregne energibehovet til vedlikehold.

Basert på beregnet behov og tildelingen av kraftfôr ble opptaket av energi fra beitegress beregnet som:

Energi fra beitegress = Behov i MJ per dag – energi tildelt i kraftfôr

Beregning av opptatt gress basert på N-alkan analyse ble utført ved hjelp av denne ligningen (Dove & Mayes 2005):

$$DM = \frac{\frac{F_i}{F_j} \times (D_j + I_c \cdot C_j) - I_c \cdot C_i}{H_i - \left(\frac{F_i}{F_j}\right) \times H_j}$$

Der;

DM = opptak i kg/TS

F_i = konsentrasjon av C₃₃ i avføring (mg/kg TS)

F_j = konsentrasjon av C₃₂ i avføring (mg/kg TS)

I_c = inntak av kraftfôr kg/dag

D_j = Dosert markør (mg/dag)

C_i = konsentrasjon av C₃₃ i kraftfôr (mg/kg TS)

C_j = konsentrasjon av C₃₂ i kraftfôr (mg/kg TS)

H_i = konsentrasjon av C₃₃ i gress (mg/kg TS)

H_j = konsentrasjon av C₃₂ i gress (mg/kg TS)

4.0 Resultater

4.1 Kjemisk sammensetning og energiverdi av beitegress og kraftfôr

Kvaliteten på beitegress varierte lite mellom tidlig vår og sensommer, men det var tendens til noe høyere innhold av råprotein ved sensommer-beite enn ved vårbeite (Tabell 5 og 4).

Fordøyeligheten av organisk stoff (OMD) var høyere på vårbeite enn på sensommer-beite, mens det var høyere beregnet innhold av nettoenergi (NEL) på sensommer-beite enn på vårbeite. Det var ingen forskjell i næringsverdi mellom de ulike beitemetodene innen uke, men for vårbeite var det høyere innhold av fiber (NDF), og lavere innhold av protein og energi i andre uke sammenlignet med første uke (Tabell 4). For Periode 2 med sensommer-beite var innholdet av råprotein i graset vesentlig høyere i uke 2 enn i uke 1 (Tabell 5).

Tabell 4. Analysert kjemisk innhold og beregnet energiverdi i beitegress i henholdsvis uke 1 og 2, for de 3 beitemetodene i Periode 1 (vårbeite). Innhold i g/kg tørrstoff (TS) om ikke annet oppgitt.

| Metode ¹ | Uke 1 | | | Uke 2 | | |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Tørrstoff (g/kg) | 220,4 | 197,5 | 211,2 | 239,2 | 218,7 | 22,84 |
| Aske | 72,1 | 72,6 | 73,0 | 66,9 | 68,0 | 66,4 |
| Råprotein | 102,3 | 105,8 | 102,5 | 90,2 | 96,8 | 93,8 |
| NDF ² | 597,0 | 611,8 | 600,8 | 617,3 | 621,2 | 617,2 |
| iNDF ² | 77,3 | 89,5 | 82,2 | 113,9 | 112,6 | 106,7 |
| Rest ³ | 228,6 | 209,8 | 223,7 | 225,6 | 214,0 | 222,6 |
| OMD ² (%) | 74,5 | 72,3 | 73,6 | 68,1 | 68,3 | 69,4 |
| NEL 20 ² (MJ/kg TS) | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 5,8 | 5,8 | 5,8 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² iNDF; Ufordøyelig nøytralløselige fiber, NDF; Nøytralløselige fiber, OMD; fordøyelighet av organisk stoff, NEL 20; Netto energi laktasjon beregnet ved opptak av 20 kg tørrstoff i rasjonen.

³ Rest beregnet som 1000-aske-råprotein-NDF.

Tabell 5. Analysert kjemisk innhold og beregnet energiverdi i beitegress i henholdsvis uke 1 og 2, for de 3 beitemetodene i Periode 2 (sensommer-beite). Innhold i g/kg tørrstoff om ikke annet oppgitt.

| Metode ¹ | Uke 1 | | | Uke 2 | | |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Tørrstoff (g/kg) | 253,5 | 235,6 | 247,2 | 186,9 | 177,5 | 187,8 |
| Aske | 67,3 | 67,2 | 69,9 | 82,3 | 78,4 | 80,2 |
| Råprotein | 113,7 | 122,8 | 118,7 | 155,7 | 159,9 | 150,3 |
| NDF ² | 587,3 | 588,9 | 585,1 | 598,1 | 593,9 | 599,9 |
| iNDF ² | 120,6 | 125,1 | 115,1 | 119,9 | 120,5 | 123,6 |
| Rest ³ | 231,7 | 221,1 | 226,3 | 163,9 | 167,8 | 169,6 |
| OMD ² (%) | 66,9 | 66,1 | 67,8 | 66,6 | 66,6 | 66,0 |
| NEL 20 ² (MJ/kg TS) | 6,5 | 6,6 | 6,5 | 6,6 | 6,7 | 6,6 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² iNDF; Ufordøyelig nøytralløselige fiber, NDF; Nøytralløselige fiber, OMD; fordøyelighet av organisk stoff, NEL 20; Netto energi laktasjon beregnet ved opptak av 20 kg tørrstoff i rasjonen.

³ Rest beregnet som 1000-aske-råprotein-NDF.

Det var liten variasjon i kjemisk innhold i kraftfôr innen begge periodene (Tabell 6).

Innholdet av NDF i kraftfôret var noe høyere i Periode 2 enn i Periode 1, mens det var motsatt for stivelse med høyest innhold i Periode 1.

Tabell 6. Kjemisk innhold i kraftfôr gitt til forsøksdyrene i Periode 1 og Periode 2 (g/kg tørrstoff om ikke annet oppgitt).

| | Periode 1 | | Periode 2 | | Gjennomsnitt |
|-------------------|-----------|---------|-----------|---------|--------------|
| | Prøve 1 | Prøve 2 | Prøve 3 | Prøve 4 | |
| Tørrstoff, g/kg | 892 | 886 | 884 | 883 | 886 |
| Aske | 68 | 65 | 69 | 71 | 68 |
| Protein | 159 | 157 | 167 | 170 | 163 |
| Fett | 49 | 46 | 55 | 55 | 51 |
| NDF | 209 | 210 | 246 | 243 | 227 |
| Stivelse | 270 | 266 | 242 | 242 | 255 |
| Rest ¹ | 294 | 302 | 276 | 274 | 287 |

¹ Rest beregnet som 1000-aske-råprotein-NDF –stivelse.

4.2 Melkeproduksjon

Melkekyrnes produksjon av melk i Periode 1 var tilnærmet lik for alle de tre beitemetodene (Tabell 7). Det var en tendens til økt innhold av FFA (frie fettsyrer) i melk mellom beitemetode 1 og 2 ($p=0,08$). For innholdet av fett i melka var det en tendens til en forskjell mellom metode 2 og 3 ($p=0,07$).

Tabell 7. Effekt på melkekyrs produksjon av melk, fett, protein, laktose og energikorrigert melk (EKM) og melkas innhold av fett, protein, laktose, urea og frie fettsyrer (FFA) i melk i forhold til beitemetode i Periode 1.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|------------------------|--------|--------|--------|------------------|----------------|---------|
| <u>Produksjon:</u> | | | | | | |
| Melk, kg/dag | 25,5 | 25,1 | 25,5 | 1,7 | 134 | 0,98 |
| Fett, g/dag | 1053,0 | 1109,0 | 1048,0 | 73,4 | 134 | 0,80 |
| Protein, g/dag | 831,0 | 839,0 | 844,0 | 55,0 | 134 | 0,99 |
| Laktose, g/dag | 1197,0 | 1200,0 | 1203,0 | 76,1 | 134 | 0,99 |
| EKM, kg/dag | 25,8 | 26,6 | 25,9 | 1,7 | 134 | 0,94 |
| <u>Innhold i melk:</u> | | | | | | |
| Fett, g/kg | 41,6 | 44,3 | 40,9 | 1,3 | 134 | 0,16 |
| Protein, g/kg | 32,7 | 33,3 | 33,1 | 0,8 | 134 | 0,89 |
| Laktose, g/kg | 47,1 | 47,8 | 47,2 | 0,5 | 134 | 0,55 |
| Urea, mmol/l | 2,93 | 2,69 | 3,00 | 1,9 | 134 | 0,46 |
| FFA, mEqv/l | 0,20 | 0,34 | 0,22 | 0,5 | 134 | 0,17 |
| VS ³ | 12,1 | 12,5 | 12,1 | 0,2 | 134 | 0,25 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² SEM; standardfeilen til middelverdiene, n; antall observasjoner.

³ VS; verdistoff, beregnet som fett + protein + laktose.

Produksjonen av melk og melkeytelse hos melkekyrne var tilnærmet lik for alle de tre beitemetodene i Periode 2 (Tabell 8). For innhold av urea i melk ble det gjennom analysen registrert en tendens til forskjell mellom metode 2 og 3 ($p=0,08$). Gjennom sammenligning av produksjonen av melk, fett, protein og laktose hos melkekyr var analyserte verdier lavere i Periode 2 enn Periode 1 (Tabell 7 og 8).

Tabell 8. Effekt på melkekyrs produksjon av melk, fett, protein, laktose og energikorrigert melk (EKM) og melkas innhold av fett, protein, laktose, urea og frie fettsyrer (FFA) i melk i forhold til beitemetode i Periode 2.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|------------------------|--------|-------|-------|------------------|----------------|---------|
| <u>Produksjon:</u> | | | | | | |
| Melk, kg/dag | 20,9 | 21,6 | 21,2 | 1,7 | 142 | 0,95 |
| Fett, g/dag | 904,0 | 937,0 | 921,0 | 84,2 | 142 | 0,96 |
| Protein, g/dag | 770,0 | 820,0 | 800,0 | 71,9 | 142 | 0,89 |
| Laktose, g/dag | 949,0 | 986,0 | 952,0 | 77,5 | 142 | 0,94 |
| EKM, kg/dag | 22,2,0 | 23,2 | 22,7 | 2,0 | 142 | 0,94 |
| <u>Innhold i melk:</u> | | | | | | |
| Fett, g/kg | 43,2 | 43,3 | 43,5 | 1,6 | 142 | 0,99 |
| Protein, g/kg | 36,9 | 37,7 | 37,9 | 1,4 | 142 | 0,88 |
| Laktose, g/kg | 45,4 | 45,6 | 45,0 | 0,4 | 142 | 0,67 |
| Urea, mmol/l | 4,29 | 4,03 | 4,64 | 0,2 | 142 | 0,22 |
| FFA, mEqv/l | 0,27 | 0,49 | 0,23 | 0,2 | 142 | 0,55 |
| VS ³ | 12,6 | 12,7 | 12,6 | 0,3 | 142 | 0,97 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område

² SEM; standardfeilen til middelverdiene, n; antall observasjoner

³ VS; verdstoff, beregnet som fett + protein + laktose

4.3 Estimering av beiteopptak

Det er ingen signifikant effekt av ulike beitemetoder på opptak av g/kg tørrstoff (TS) hos melkekyr, når utregningen er basert på energibehov og høydemåling av gresset (Tabell 9). N-alkan analysene viser en tendens til signifikante forskjeller mellom metode 2 og 3 (p=0,06). Sammenlikning av opptak i g/kg tørrstoff og g/kg total tørrstoff inntak (TSI) mellom energibehov og n-alkan hos melkekyr stemmer godt overens i Periode 1 men ikke i Periode 2 (Tabell 9 og 10).

Tabell 9. Effekt av beitemetoden på opptak av gress og total fôropptak (kg TS/dag) basert på utrekning av energibehov, høydemåling og n-alkanteknikken i Periode 1.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|------------------------------|-------|-------|-------|------------------|----------------|---------|
| <u>Basert på energibehov</u> | | | | | | |
| Beite | 14,57 | 14,76 | 14,59 | 0,94 | 138 | 0,98 |
| Totalt ³ | 19,00 | 19,19 | 19,02 | 0,94 | 138 | 0,98 |
| <u>Basert på høydemåling</u> | | | | | | |
| Beite | 17,49 | 17,47 | 17,58 | 0,34 | 6 | 0,97 |
| Totalt ³ | 21,91 | 21,90 | 22,01 | 0,34 | 6 | 0,97 |
| <u>Basert på n-alkan</u> | | | | | | |
| Beite | 15,07 | 14,05 | 17,72 | 1,30 | 46 | 0,15 |
| Totalt ³ | 19,50 | 18,48 | 22,15 | 1,30 | 46 | 0,15 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² SEM; standardfeilen til middelveiene, n; antall observasjoner.

³ Totalt; gress og kraftfôr

Det var ingen signifikant effekt av ulik beitemetode på opptak av tørrstoff, og det totale tørrstoffinntaket basert på energibehov og høydemåling (Tabell 10). Ved n-alkan analyse er det en signifikant forskjell mellom metode 1 og 2 (p=0,05). I Periode 2 stemmer opptak fra beite basert energibehov og høydemåling godt overens, mens n-alkan analysen har et vesentlig høyere estimat (Figur 13 og Tabell 10). For Periode 1 hadde utregning basert på høydemåling et høyere estimat enn energibehov og n-alkan (Figur 12 og Tabell 9). Opptak basert på energibehov og n-alkan analyse ble registrert med nesten likt resultat, med unntak ved n-alkan analysen fra metode 3 (Tabell 9).

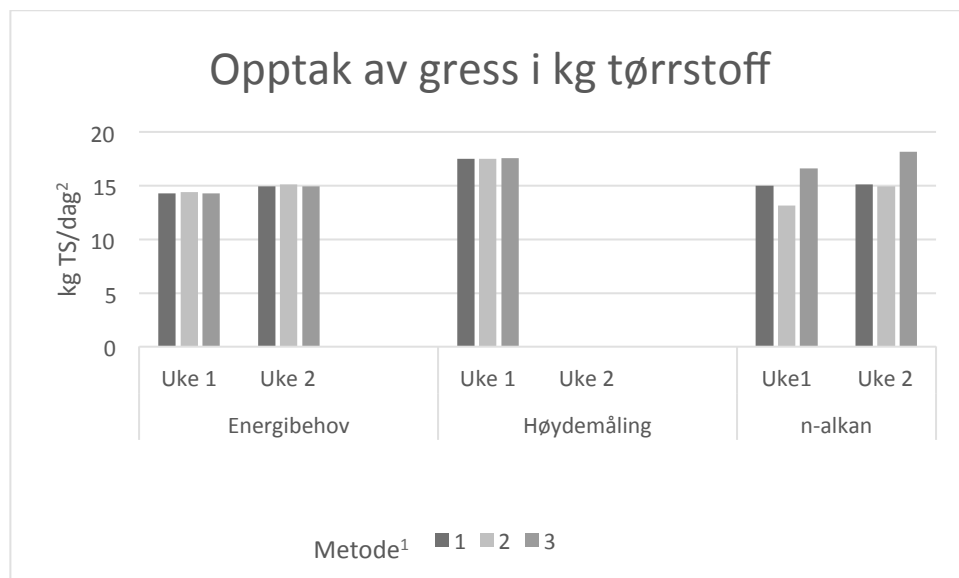
Tabell 10. Effekt av beitemetoden på opptak av gress og total fôropptak (kg TS/dag) basert på utrekning av energibehov, høydemåling og n-alkanteknikken i Periode 2.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|------------------------------|-------|-------|-------|------------------|----------------|---------|
| <u>Basert på energibehov</u> | | | | | | |
| Beite | 12,45 | 13,00 | 12,58 | 0,91 | 143 | 0,90 |
| Totalt ³ | 15,99 | 16,55 | 16,11 | 0,91 | 143 | 0,90 |
| <u>Basert på høydemåling</u> | | | | | | |
| Beite | 10,71 | 10,06 | 10,11 | 0,64 | 12 | 0,73 |
| Totalt ³ | 14,25 | 13,60 | 13,65 | 0,64 | 12 | 0,74 |
| <u>Basert på n-alkan</u> | | | | | | |
| Beite | 20,97 | 18,38 | 19,99 | 0,90 | 48 | 0,14 |
| Totalt ³ | 24,51 | 21,92 | 23,53 | 0,90 | 48 | 0,14 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² SEM; standardfeilen til middelverdiene, n; antall observasjoner.

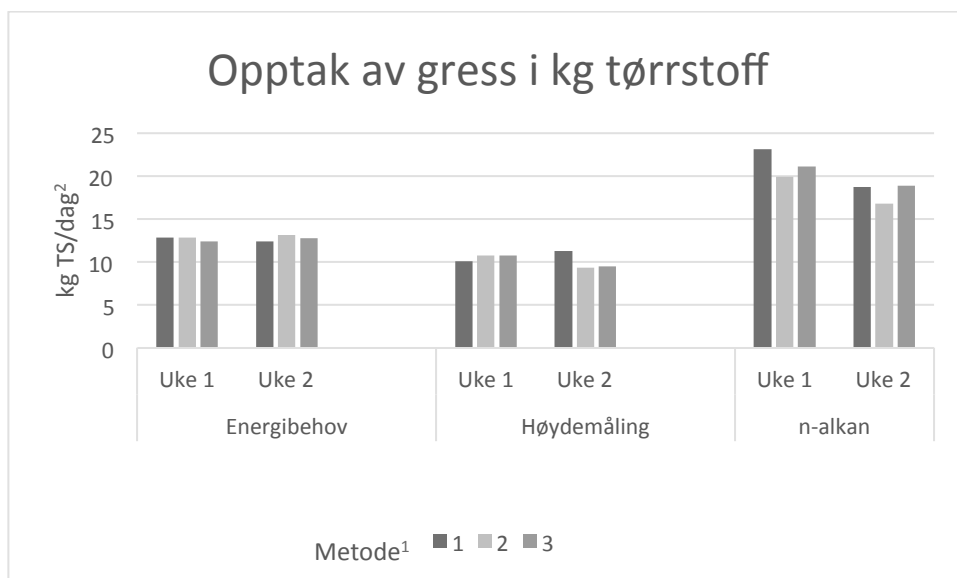
³ Totalt; gress og kraftfôr



Figur 12. Sammenlikning av daglig opptak av gress hos melkekyr for uke 1 og uke 2 basert på utregning ved energibehov, høydemåling av gress og n-alkanteknikken i Periode 1.

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område

² TS; tørrstoff



Figur 13. Sammenlikning av daglig opptak av gress hos melkekyr for uke 1 og uke 2 basert på utregning ved energibehov, høydemåling av gress og n-alkanteknikken i Periode 2.

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² TS; tørrstoff.

4.4 Målt metanutslipp

Beitemetode og utslipp av metan hos melkekyr i Periode 1 ga ingen signifikante verdier (Tabell 11). Den numeriske forskjellen var størst mellom metode 1 (307g/dag) og 3 (263 g/dag), men det var ingen signifikant forskjell ($p=0,23$). Utslipp av metan hos melkekyr uttrykt som g/kg EKM, har tilnærmet like verdier for alle de tre beitemetodene. Tilnærmet like verdier har også Metan uttrykt som g/kg av TS og TSI, når alle metodene er uavhengige av utregningsmetode benyttet (Tabell 11). Det var tendens til signifikant forskjell mellom metode 2 og 3 ved utregning basert på høydemåling ($p=0,10$). Når metan var uttrykt som g/kg av TSI var det også en signifikant forskjell mellom metode 1 og 2 ($p=0,10$), basert på høydemåling av gress.

Tabell 11. Effekt av beitemetode på utslipp av metan hos melkekyr, og utslipp av metan i forhold til energikorrigert melk (EKM). Opptak av kraftfôr og beitegress er basert på energibehov, høydemåling av gress og n-alkan analysen i Periode 1.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|-------------------------------|--------|--------|--------|------------------|----------------|---------|
| g/dag | 307,00 | 288,00 | 263,00 | 26,1 | 78 | 0,49 |
| g/kg av EKM | 10,37 | 10,32 | 10,63 | 1,8 | 78 | 0,99 |
| g/kg av kraftfôr | 69,72 | 64,52 | 58,75 | 5,7 | 82 | 0,40 |
| <u>Basert på energibehov:</u> | | | | | | |
| g/kg av TS ³ | 17,81 | 18,67 | 17,57 | 2,7 | 63 | 0,96 |
| g/kg av TSI ³ | 14,07 | 14,51 | 13,38 | 1,9 | 63 | 0,91 |
| <u>Basert på høydemåling:</u> | | | | | | |
| g/kg av TS ³ | 16,04 | 16,11 | 13,94 | 0,55 | 6 | 0,16 |
| g/kg av TSI ³ | 12,78 | 12,85 | 11,13 | 0,39 | 6 | 0,14 |
| <u>Basert på n-alkan</u> | | | | | | |
| g/kg av TS ³ | 18,46 | 18,11 | 14,97 | 2,43 | 22 | 0,59 |
| g/kg av TSI ³ | 14,48 | 14,05 | 11,75 | 1,73 | 22 | 0,54 |

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² SEM; standardfeilen til middelverdiene, n; antall observasjoner.

³ TS; tørrstoff, TSI; det totale tørrstoff inntaket.

Det ble ikke påvist noen signifikante forskjell mellom tildelingen av beite og utslipp av metan hos melkekyr i Periode 2 (Tabell 12). Utslipp av metan uttrykt som g/kg EKM er tilnærmet likt for metode 1 og 3, men metode 2 har noe lavere verdier, noe som også er gjeldene for metan uttrykt som g/dag (Tabell 12). For metan uttrykt som g/kg opptak av gress og det totale tørrstoff inntaket var det ingen signifikant effekt på ulik beitemetode, uavhengig av hvilken utregningsmetode som ble benyttet (Tabell 12).

Tabell 12. Effekt av beitemetode på utslipp av metan hos melkekyr, og utslipp av metan i forhold til energikorrigert melk (EKM). Opptak av kraftfôr og beitegress er basert på energibehov, høydemåling av gress og n-alkan analysen i Periode 2.

| Metode ¹ | 1 | 2 | 3 | SEM ² | n ² | p-verdi |
|-------------------------------|--------|--------|--------|------------------|----------------|---------|
| g/dag | 305,00 | 277,00 | 315,00 | 37,29 | 29 | 0,75 |
| g/kg av EKM | 13,94 | 11,58 | 13,98 | 2,46 | 29 | 0,70 |
| g/kg av kraftfôr | 85,75 | 78,34 | 96,21 | 10,12 | 29 | 0,48 |
| <u>Basert på energibehov:</u> | | | | | | |
| g/kg av beite | 23,92 | 20,24 | 27,67 | 1,20 | 29 | 0,42 |
| g/kg av TSI ³ | 18,65 | 15,99 | 21,46 | 2,79 | 29 | 0,41 |
| <u>Basert på høydemåling:</u> | | | | | | |
| g/kg av beite | 27,32 | 29,38 | 35,08 | 6,33 | 6 | 0,71 |
| g/kg av TSI ³ | 20,39 | 21,59 | 25,57 | 4,39 | 6 | 0,72 |
| <u>Basert på n-alkan:</u> | | | | | | |
| g/kg av TS ³ | 15,54 | 15,88 | 16,53 | 1,62 | 17 | 0,92 |
| g/kg av TSI ³ | 13,08 | 13,22 | 13,83 | 1,92 | 17 | 0,93 |

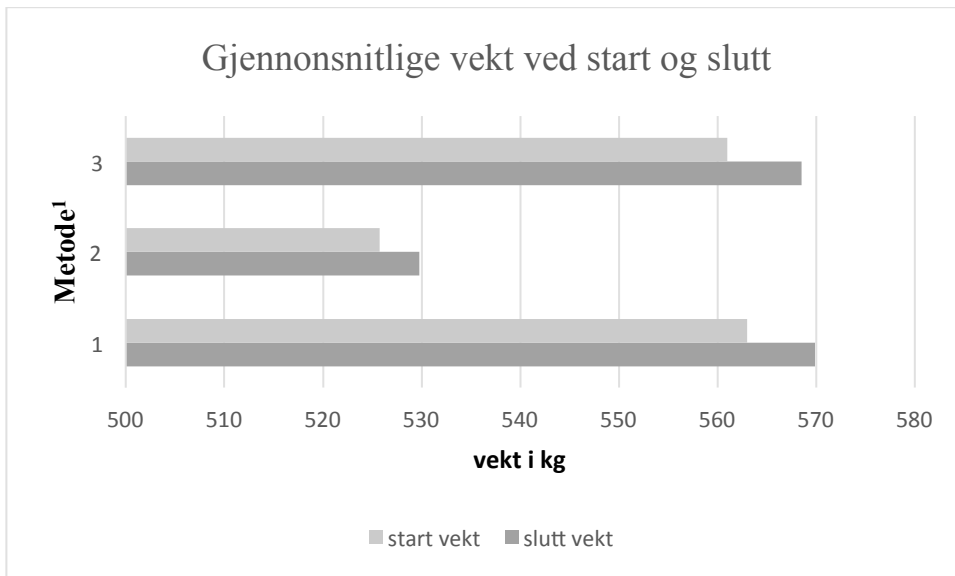
¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

² SEM; standardfeilen til middelverdiene, n; antall observasjoner.

³ TSI; det totale tørrstoff inntaket.

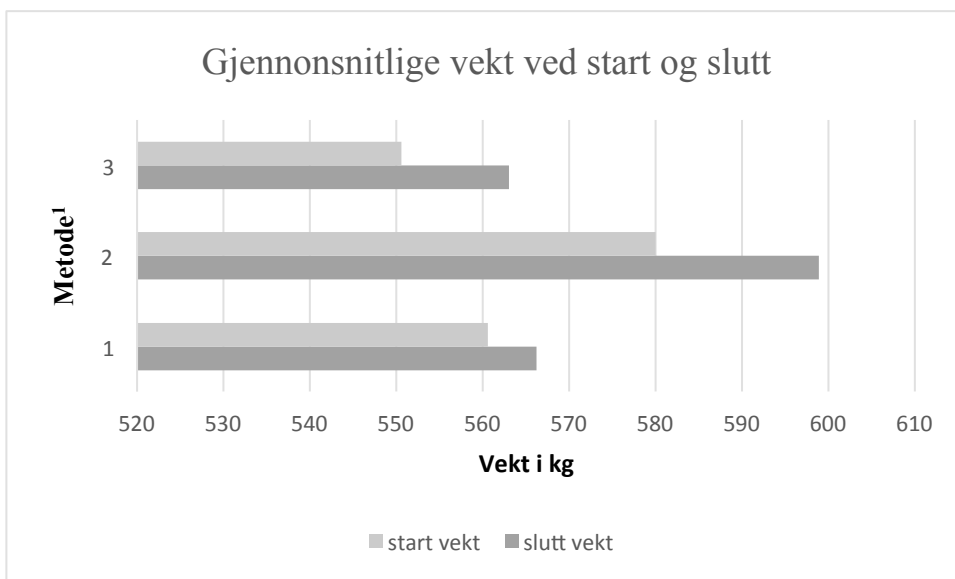
4.5 vektendring

I Periode 1 hadde kyrne i beitemetode 1 og 3 høyere startvekt enn i Periode 2, for kyr i beitemetode 2 var det omvendt (Figur 14 og 15).



Figur 14. Oversikt over gjennomsnittlig forandring av kyrnes vekt i forhold til de tre ulike beitemetodene, gjennom hele Periode 1.

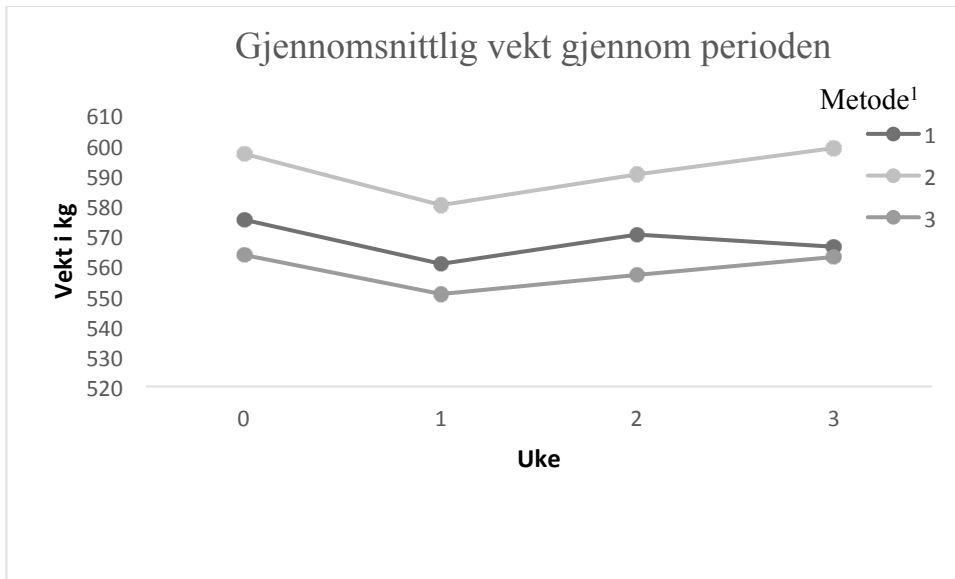
¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.



Figur 15. Oversikt over gjennomsnittlig forandring av kyrnes vekt i forhold til de tre ulike beitemetodene, gjennom hele Periode 2.

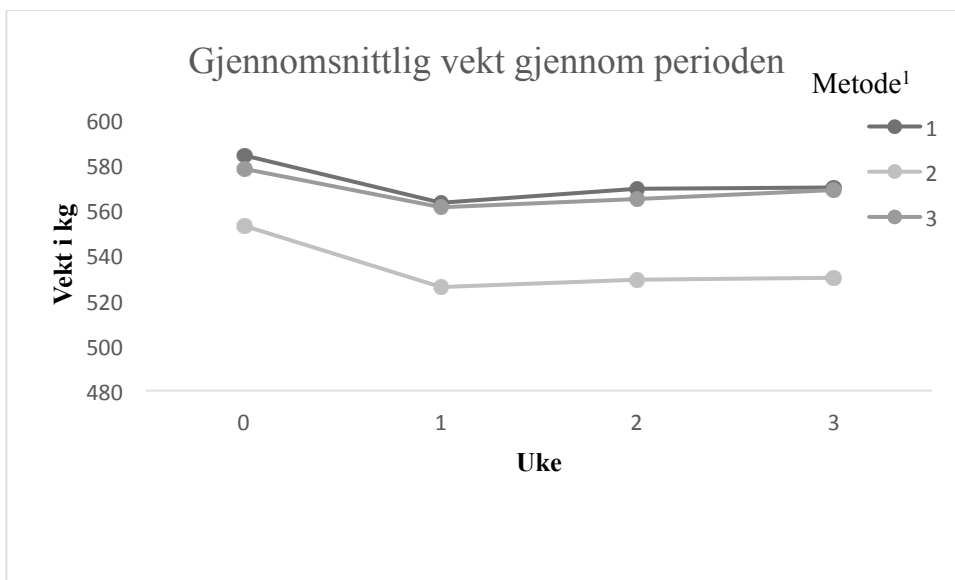
¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område

Det ble registrert en tydelig vektnedgang i kyrnes tilvenningsuke, uavhengig av beitemetode, og periode (Figur 16 og 17).



Figur 16. Gjennomsnitt vekt til kyrne innenfor de tre beitemetodene i Periode 1, der uke 0 er begynnelsen av tilvenningsperioden.

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.



Figur 17. Gjennomsnitt vekt til kyrne innenfor de tre beitemetodene i Periode 2, der uke 0 er begynnelsen av tilvenningsperioden.

¹ Metode 1; skiftbeite, Metode 2; Stripebeiting 1 en ny stripe hver dag, Metode 3; stripebeiting 2 en ny stripe hver dag og mulighet til å bruke tidligere område.

5.0 Diskusjon

Formålet med denne studien var å undersøke hvordan ulike beitestrategier virket inn på utslipp av metan fra melkekyr. Etter min kjennskap er dette første studiet i Norge som omhandler beitestrategier i forhold til metanutslipp. Det er tidligere utført et studie i Norge om metanutslipp på beite (Storlien et al. 2015). Formålet med deres studie var å se om ulike fettkilder i kraftfôr hadde en innvirkning på metanproduksjon fra melkekyr.

I min studien ble det funnet en gjennomsnittlig metanproduksjon hos melkekyr på 286 g/dag på vårbeite, og 299 g/dag ved sensommer-beite uavhengig av beitemetode. Dette stemmer godt med Storlien et al. (2015) og andre tidligere studier som omhandler melkekyr på beite (Boadi et al. 2002b; DeRamus et al. 2003). I samsvar med Boadi og Wittenberg (2002), som fant ut at utslipp av metan varierte fra 115,9 til 399,5 liter per dag, viser mine resultater at utslipp av metan varierte kraftig fra forsøksdag til forsøksdag. Siden SF₆ teknikken ble oppfunnet har den vert mye brukt til å beregne produksjonen av metan fra kyr og småfe, og SF₆ teknikken er til nå den beste metoden for å måle metanproduksjonen hos dyr på beite. Imidlertid er det et problem at metoden gir stor variasjon i metanproduksjonen innen målinger på enkeltindivider fra dag til dag. Selv om gjennomsnittlig verdi for beregnet metanproduksjon viser godt samsvar med målinger i respirasjonskammer (Grainger et al. 2007), gjør den store variasjonen i metanproduksjon det vanskelig å påvise sikre forskjeller mellom forsøksledd. Måling av metan ved hjelp av SF₆ teknikken er med andre ord noe mer upresis enn ved bruk av kammer. Et høyere antall forsøksdyr vil kunne kompensere for dette. I mitt forsøk ble det benyttet 24 melkekyr totalt, men bare 12 av dem til metanmålingene. Dette var for få individer til å påvise statistisk sikre forskjeller mellom de ulike beitemetodene. Imidlertid var det numeriske forskjeller mellom de ulike beitemetodene.

5.1 Vurdering av metode

Det har i tidligere studier blitt vist at SF₆ teknikken enten underestimerer utslippet av metan med 3-10 % (Johnson et al. 1994; Pinares-Patiño et al. 2008a), eller overestimerer med 1-2 % (Boadi et al. 2002a). I nyere forsøke har det blitt vist at frigjøringsraten av SF₆ spiller inn på hvor nøyaktig måling du oppnår (Deighton et al. 2013). Blant annet fant Pinares-patiño og Clark (2008) at estimat av CH₄ var positivt relatert til frigjøringsraten av SF₆, ved at en lav frigjøringsrate førte til lave verdier av metanutslipp. Deighton et al. (2013) viset i sitt forsøke at frigjøringsrate av SF₆ ikke var konstant som tidligere antatt, men at den sakte avtok over

tid. Dette kan være en forklaring på min studie fikk dårlige resultat av metaanalyser i Periode 2, da det ved gasskromatografi ikke var mulig å finne SF₆ i mange av prøvene. Pinares-Patiño et al. (2008b) foreslo i sitt forsøk bruk av kapsler med høy frigjøringsrate for å få et bedre estimat av CH₄, i min studie var frigjøringsraten fra 3,56 til 5,74 mg/d. Det har blitt påvist at det er en korrelasjon mellom frigjøringsraten til SF₆ og estimert utslipp av metan ved at, gjenfinnings graden av SF₆ går ned ved økende frigjøringsrate (Cavanagh et al. 2008). Dette viser at metoden er upresis og det burde vært gjennomført flere studier ved bruk av SF₆ teknikken for å undersøke om frigjøringsraten påvirker målte verdier av metanutslipp. I en ny studie (Moate et al. 2015) ble det vist at Michaelis-Menten kinetikk gir en mer nøyaktig beskrivelse av frigjøringsraten fra SF₆ kapselen, enn antakelsen om at frigjøringsraten er konstant etter oppnådd likevekts-punkt for frigjøringsraten. I mitt forsøket ble det antatt at frigjøringsraten av SF₆ var konstant, da dette har vært praksis i tidligere studier med SF₆ som markør. Ett annet problem som det er viktig å forholde seg til er hvordan fukt og nedbør kan føre til blokkeringer i kapillærrørene og dermed innsig av gass i yoken. Barbaro et al. (2008) fant at fukt og mye nedbør hadde innvirkning på resultatet for beregningen av metanutslipp. Mye nedbør og fukt skapte muligens blokkeringer i “slange-systemet” i Periode 2 da det i denne perioden kom mye nedbør, og det generelt var fuktighet i gresset. Dette er også en mulig forklaring på at det i mange av gassprøvene ikke ble påvist SF₆ og lave verdier av metan ved gasskromatografien. Trolig er en mer sannsynlig forklaringen en sammenheng mellom de to nevnte problemene, lav frigjøringsrate og blokkering av systemet.

Metanprøvene og n-alkanprøver ble analysert ved hjelp av gasskromatografi (GC) koblet til et massespekter (MS) som analysere innholdet av de ulike stoffene i prøven. Mange anser kombinasjonen av GC og MS for å være en “gullstandar” i vitenskapelige analyser. Til tross for at den har enkelte begrensninger. En er at det legges for stor tillit til GC/MS analyse til at eventuelle feil som oppstår blir vanskelig å finne. Noe av problemet ligger i at det kan oppstå uriktige forhold i GC-delen. Hvis GC ikke skiller de ulike komponenten helt riktig vil denne feilen forplante seg til MS. Det vil i de aller fleste tilfellene føre til bakgrunnsstøy i massespekteret og innholdet av gassen/komponenten blir feiltolket. Lignende forstyrrelser kan også oppstå hvis bæregassen ikke blir riktig hindret fra å komme inn til MS instrumentet (Douglas 1999). Bakdelen med bruk av gasskromatografi er at komponentene i prøven må være flyktige og tåle høye temperaturer, slik at de ikke blir nedbryt under analysen (Scott 1997). Ved analyse av n-alkan blir innholdet av de ulike langkjedet karbon bestemt ut fra oppholdstiden i GC og sammenliknet med en kjent standard. Topper i MS blir omdannet til

mengden av den langkjedete karbonet, ved å sammenligne den med interne standarder (Dove 1992).

5.2 Beregning av beiteopptak

I tillegg til n-alkan som markør ble opptak av fôr estimert ut fra energibehov i forhold til produksjon og høydemåling av gress før og etter beiting. Estimering av fôropptak basert på høydemåling er upresist da det er stor sjanse for feil estimering da det er vanskelig å måle høyden av gresset riktig. I tillegg vil metoden kun gi verdier på gruppebasis og ikke for hvert enkelt individ. Utregning av energibehov er basert på behovet for energi til vedlikehold og melkeproduksjon uten at behovet til deponering/mobilisering av kroppsvekt er tatt med. Årsaken til det var kort forsøksstid og store variasjoner i vekt hos enkelt dyr. Det skyldtes trolig ikke reell forandring i vekt, men mer sannsynlig endring i vom-fyllingsgrad. Antakelig var det ikke nok med fire vektmålinger i hver periode for å få en tilfredsstillende vektregistrering på enkeltindivid. Opptak fra beite ved bruk av alkanmetoder og energibehov hos dyra er også sammenlignet i andre studier (Helgesen 2011). De fant at ved alkan metoden var opptak av TS høyest om høsten og lavest om sommeren. Dette er samme resultatet som i denne studien (Tabell 9 og 10). Ut fra mine observasjoner av kyrnes melkeytelse ser det ut til at n-alkan underestimerer opptaket av gress om våren, og overestimerer det om sensommeren.

Når utført korrekt er både n-alkan som markør, og utregning basert på energibehov, gode metoder for å estimere fôropptak på beite, men de har begge sine feil og mangler. Bruk av energibehov krever at alle dyr er i energibalanse, eller at vektendringer er kjent. Dette var ikke tilfelle i dette forsøket. I tillegg legger den til grunn en fastsatt verdi til kyrnes bevegelse, noe som ikke er sannsynlig da det vil være store individuelle forskjeller på hvor mye dyrene beveger seg. Bruk av energibehov til å estimere fôropptak forutsetter også at alle dyr har lik utnytting av fôr og at energiverdien av gresset er rett estimert. Dette er ikke alltid tilfelle. Til tross for dette gir beregninger basert på energibehov sett opp mot produksjon, et tilfredsstillende estimat på fôropptak ved beite. Den beste metoden til å estimere opptak av fôr hos dyr på beite i dag er mest trolig bruk av alkan som markør, kombinert med bruken av langkjedet alkoholer. N-alkan har en mer nøyaktig måling på individnivå, men den er tidkrevende og omfattende. Bruk av n-alkan som markør har også mange feilkilder. De viktigste er feil i selve analysen av prøvene fra plantene eller kyrnes avføring, og at det er vanskelig å samle inn representative gressprøver av hva kyrne faktisk spiser. Den vanligste feilkilden er trolig at innhold av n-alkan i arter og plantedeler variere mye. Derfor er en

representativ prøve av hva kyrne faktisk spiser viktig, noe som i praksis er vanskelig å estimere. En viktig fordel med n-alkan som markørmetode, er imidlertid at det i tillegg er mulig å finne sammensetningen av dietten og opptaket av hver enkel planteart (Dove & Mayes 2005)

5.3 Effekt av ulike beitemetoder på metanutslipp og fôropptak

I Periode 1 ble det funnet et gjennomsnittlig metanutslipp på 286/g dag og mot 299g/dag i Periode 2. Det var ingen forskjeller i metanutslipp mellom de ulike beitemetodene hverken i Periode 1, eller i Periode 2. Opptak av fôr viste stor variasjon mellom de ulike metodene, men for Periode 1 stemmer fôropptak basert på energibehov (14,6 kg TS/dag) og n-alkan analyse (15,6 kg TS/dag) relativt bra (Tabell 9), i Periode 2 stemmer det dårligere, men her vet vi at det antagelig er en feil i analysen av n-alkan (Tabell 10). Det er mulig at verdiene vil samsvare også her når feilen blir rettet opp. Sammenlignet med Periode 1 gikk fôropptaket basert på energibehovet ned i Periode 2, fra henholdsvis ca. 14,5 og 12,5 kg TS/dag. Dette samsvarer med at gjennomsnittlige melkeproduksjon gikk ned og at beite ifølge kjemisk analyser hadde best kvalitet i Periode 2. Metanutslipp som ble funnet i denne studien var i samsvar med forsøket til Storlien et al. (2015), men ikke fôropptak da de estimerte det til kun 7,6 kg TS/dag. Årsaken til den store variasjonen mellom forsøkene, henger trolig sammen med at Storlien et al. (2015) benyttet 9 kg kraftfôr pr. melkeku pr. dag, mens dette forsøket benytter 4-5 kg pr. melkeku pr. dag. En annen forklaring til melkekyrnes variasjon i opptak av fôr kan være ulik beitekvalitet mellom de nevnte studier. Kyrenes vekt, alder, laktasjonsstadium, melkeytelse vil også spille inn på fôropptak til melkekyr. I tillegg kan også variasjoner i temperatur og nedbør påvirke gresset kvalitet og næringsinnhold, og dermed beiteopptaket.

I et studie av Enriquez-Hidalgo et al. (2014) fikk kyrne tilgang på 16 kg TS per dag. Arealet ble stripebeitet med tilgang på nytt beite etter morgenmelking. De fant at kyrne hadde et tørrstoff opptak på 15 kg per dag ved tilgang på bare gress (GO), og et opptak på 16,5 kg av TS/ per dag når beite inneholdt gress og hvitkløver (GW_C). Dette er i samsvar med mine resultatene oppnådd i Periode 1. Utslipp av metan var imidlertid på 360,5 g/dag ved GO og 353,6 g/dag ved GW_C . Dette er et vesentlig høyere enn målte verdier av metanutslipp i denne studien. Årsaken til forskjellen kan være at det ikke er brukt samme ku-rase, samt at våre melkekyr (Berry et al. 2015) . Raseforskjell er en mulig forklaring på forskjellene i metanproduksjon. I min studie ble det benyttet kraftfôr, dette kan være en mer sannsynlig

forklaring på denne forskjellen. Da kraftfor medfører at mer propionsyre blir dannet. Mer propionsyre i forhold til eddiksyre vil gi lavere overskudd av H^+ , og dermed mindre substrater til å danne CH_4 .

I en tidligere studie ble det påvist et metanutslipp på 229-313 g/dag ved et estimert opptak på 12,9 kg TS per dag (basert på beregninger ut fra energibehov) (Lassey et al. 1997). Dette resultatet samsvare med mine resultater for Periode 2 (Tabell 10 og 12). For Periode 1 hadde melkekyrne et litt høyere fôropptak basert på energibehov (Tabell 9), men metanproduksjonene var tilnærmet lik (Tabell 11). Lassey et al. (1997) fant gjennomsnittlig melkeproduksjon på 14,1 kg/dag, mens det i dette forsøket ble målt til omtrent 25 kg/dag i Periode 1 og 21 kg/dag i Periode 2. Dette kan forklare hvorfor fôropptak i Periode 1 ikke stemmer overens med resultatene til Lassey et al. (1997). En mulig forklaring kan være at forholdene mellom beitene er veldig ulike, og at estimering av fôropptak basert på energibehov ikke tar hensyn til beitekvalitet, noe n-alkan analyse ville gjort.

I min studie ble det registrert en høy forekomst av gress per dekar i Periode 1, mens gress per dekar i Periode 2 var lav. Wims et al. (2010) utførte et forsøk midt i beitesesongen (juni og juli), hvor de undersøkte hvordan lav og høy tildeling av gress per dekar påvirket opptak av gress hos melkekyrne, melkeproduksjonen og metanproduksjonen. Ved å sammenligne mine resultater mot deres resultat, ser vi at målt produksjon av metan, 263 g/dag til 315 g/dag, stemmer med verdier som de fikk, 286-320 g/dag. Nevnte studie hadde to perioder. De fant ikke en signifikant forskjell mellom lav og høy tildeling av gress per dekar i første periode, men oppnådde det i andre periode (Wims et al. 2010). Dette indikerer at måling av metan ved hjelp av SF_6 teknikken er upresis. Et høyt antall dyr vil utjevne dette, da det var stor variasjon i målinger innenfor hvert enkelt individ. Ut fra forsøket til Wims et al. (2010), og mine observasjoner, er det vanskelig å si om mengde gress per dekar spiller inn på produksjonen av metan. Imidlertid, kan gress per dekar trolig påvirke hvor effektivt melkekyrne beiter, og derigjennom muligens sammensetningen av VFA i vomma. Mellom metode 1 og metode 3 i Periode 1 var det en nokså stor numeriske forskjell i produksjon av metan. De viktigste årsakene til det, er stor variasjon i produksjon av metan, opptak av fôr og størrelsen på kyrne. Flere individer i hver metode hadde hjulpet på utjevne de numeriske forskjellen i produksjonen av metan. Mellom Metode 1 og Metode 3 var det en variasjon i produksjon av metan i g/kg/TS basert på n-alkan, 18, 5 g/kg/ TS og 15,0 g/kg TS. Dette tyder på at sammenhengen mellom produksjon av metan og opptak av fôr er komplekse og at det er

variabler og samspill som vi ikke har registrert. I et forsøke med måling av ulike kraftfôr nivå og utslipp av metan ble det funnet et gjennomsnittlig utslipp av metan på 273 g/dag ved 4 kg kraftfôr (Jiao et al. 2014). Dette er omtrentlig likt med mine resultat for Metode 2 i Periode 2 og Metode 2 og 3 i Periode 1 (Tabell 11 og 12).

I et forsøk gjort av Cavanagh et al. (2008) ble det over 2 år målt utslipp av metan på neste 700 kyr av blandingsrasen Friesian/Jersey. De fant et gjennomsnittlig utslipp på 311 g/dag med en variasjon fra 151-497 g/dag ved et fôropptak på 17,1 kg TS/dag, noe som samsvarer med min studie. Flere årsaker til variasjon i metanproduksjon er nevnt tidligere. Av andre mulige årsaker fant Lee et al. (2004) ut at økende innslag av kløver i beite med flerårig raigras påvirket metanutslippet. Lee et al. (2004) fant ut at metanutslippet økte med økende mengde kløver i beite. Ved kun flerårig raigras i beitet fant de et opptak av beitegress på 15,6 kg tørrstoff/dag, noe som er likt med mine resultat i Periode 1. En medvirkende årsak til variasjonen i metanproduksjon kan derfor være forskjell i sammensetningen av beiteplanter mellom beitemetodene, og mellom Periode 1 og Periode 2. Ulike gress- og plantearter har en innvirkning på produksjonen av VFA. For eksempel kan høyt innhold av sukker i timotei gi økt produksjon av smørsyre. Sammenlignet med eddiksyre gir smørsyre fire færre frie hydrogenmolekyl og dermed redusere produksjonen av metan.

I tillegg til type og kvalitet av beitegresset vil mye belgvekster og planter som inneholder sekundære metabolitter som tannin gi lavere produksjon av metan og dermed metanutslipp (Brockman 2013). Dette kan stemme med min studie da innslaget av kløver var størst ved vårbeite, hvor utslippet av metan i forhold til opptak av fôr og produksjon av melk var minst.

6.0 Konklusjon

Det er mange faktorer som spiller inn på hvor stor metanproduksjon er hos melkekyr, og andre drøvtyggere når de går på beite. I min studie ble det ikke påvist at ulike beitemetoder hadde en effekt på metanproduksjon. Ved stripebeiting 2, Metode 3, var metanproduksjonen lavest i Periode 1 og høyest i Periode 2. Hypotesen om at stripebeiting vil føre til mindre metanutslipp ble derfor ikke bekreftet. Melkekyrne i Periode 1 hadde høyest melkeytelse per dag, og lavest gjennomsnittlig metanproduksjon, uavhengig av beitemetode. Selv om min studie ikke fikk påvist at ulike beitemetoder påvirker metanutslipp, kan det likevel ikke utelukkes da resultatene for beregnet metanproduksjon var varierende og upresise. Upresise resultater kommer trolig av at det er få dyr med i forsøket, og at lavet datagrunnlag medfører feilaktige verdier for hvordan beitemetoder påvirker tørrstoff opptaket, metanutslipp og melkeytelsen hos melkekyrne. Tidligere har det blitt vist at SF₆ teknikken gir varierende resultater på metanutslipp, og at frigjøringsraten ikke er konstant som antatt i dette studiet. I fremtidige studier bør det etterstrebtes å benytte kapsler med minimale variasjoner i frigjøringsraten seg imellom for å oppnå bedre resultater.

7.0 Referanseliste

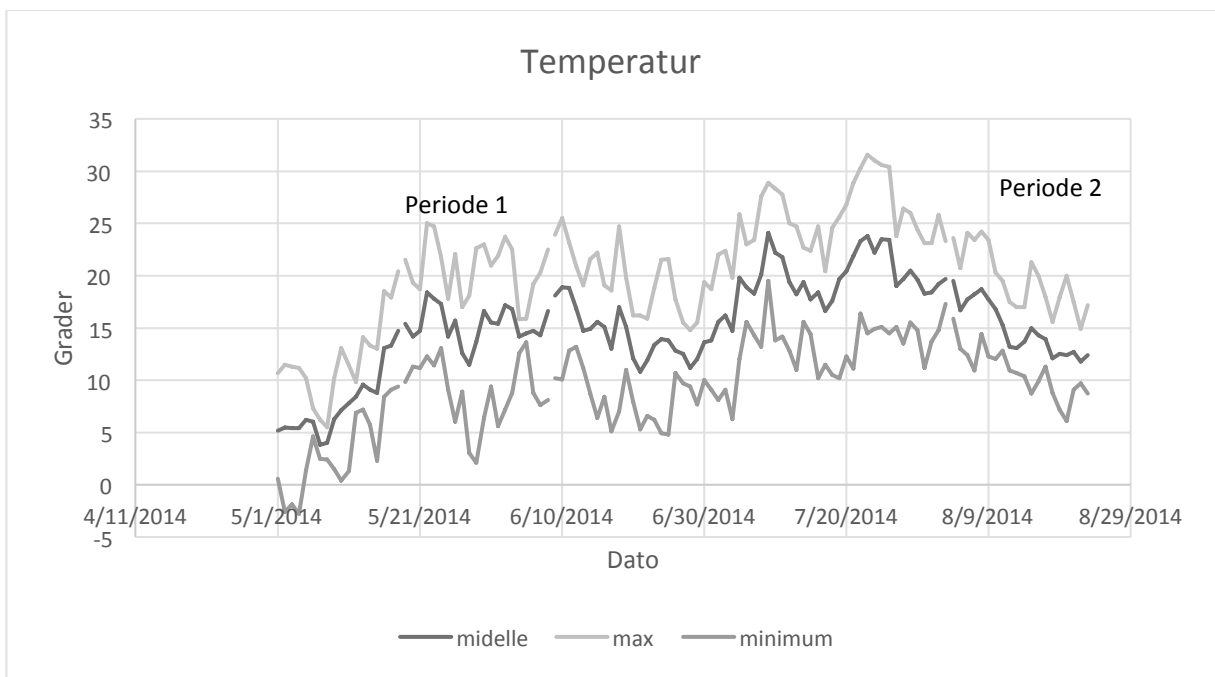
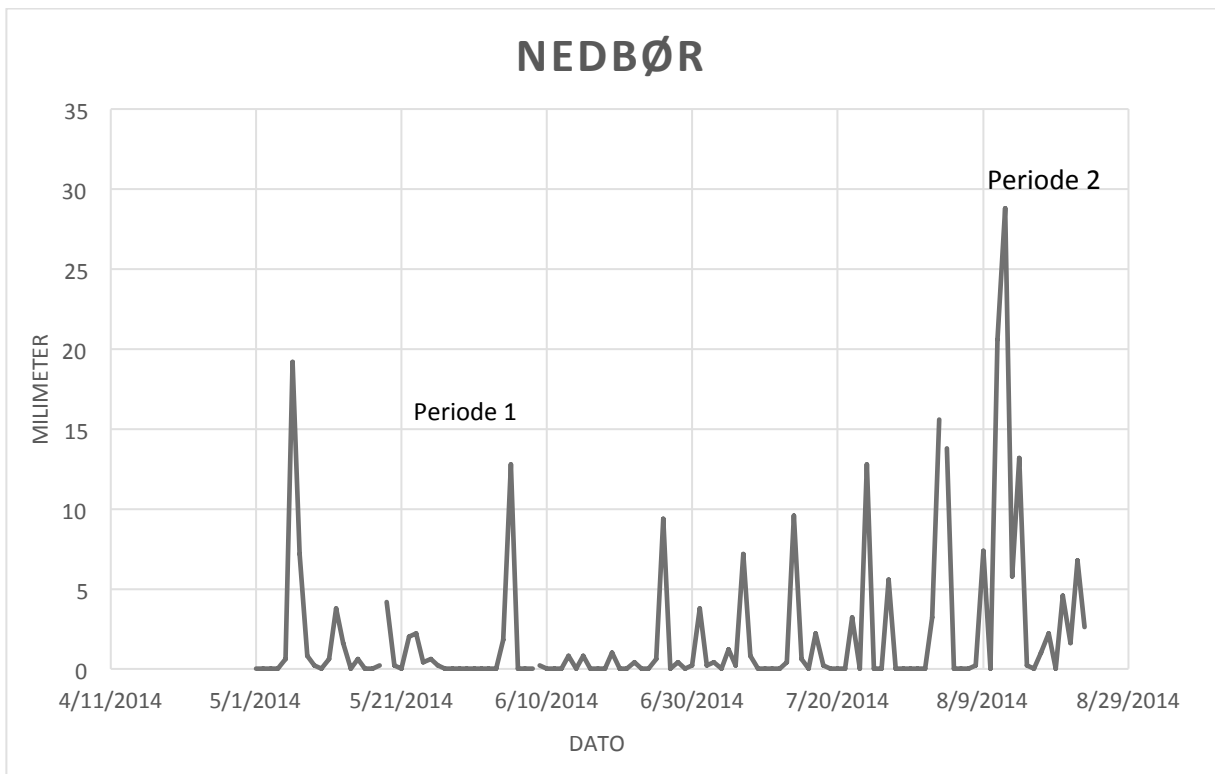
- Alemu, A. W., Dijkstra, J., Bannink, A., France, J. & Kebreab, E. (2011). Rumen stoichiometric models and their contribution and challenges in predicting enteric methane production. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167: 761-778.
- Bach, A., Calsamiglia, S. & Stern, M. D. (2005). Nitrogen Metabolism in the Rumen*. *Journal of Dairy Science*, 88, Supplement: E9-E21.
- Baker, S. K. (1999). Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50 (8): 1293-1298.
- Balch, W. E., Fox, G., Magrum, L., Woese, C. & Wolfe, R. (1979). Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiological reviews*, 43 (2): 260.
- Baldwin, R. L. & Allison, M. J. (1983). Rumen Metabolism. *Journal of Animal Science*, 57 Suppl 2: 461-77.
- Barbaro, N., Gere, J., Gratton, R., Rubio, R. & Williams, K. (2008). First measurements of methane emitted by grazing cattle of the Argentinean beef system. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 51 (2): 209-219.
- Barthram, G. T. (1986). Experimental techniques: the HFRO sward stick. *IN: Biennial Report. Hill Farming Research Organisation, 1884-1985. pp. 29-30. Penicuik, UK: Hill Farming Research Organisation.*
- Berry, D., Lassen, J. & de Haas, Y. (2015). Residual feed intake and breeding approaches for enteric methane mitigation. *Livestock Production and Climate Change*, 6: 273.
- Bhatta, R., Enishi, O. & Kurihara, M. (2007). Measurement of methane production from ruminants. *Asian Australasi an Journal of Animal Science*, 20 (8): 1305.
- Blaxter, K. L. (1962). *The energy metabolism of ruminants*. London.
- Boadi, D. & Wittenberg, K. (2002). Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF6) tracer gas technique. *Canadian journal of animal science*, 82 (2): 201-206.
- Boadi, D. A., Wittenberg, K. M. & Kennedy, A. D. (2002a). Validation of the sulphur hexafluoride (SF6) tracer gas technique for measurement of the methane and carbon dioxide production by cattle. *Validation of the sulphur hexafluoride (SF6) tracer gas technique for measurement of the methane and carbon dioxide production by cattle*, 82 (2): 125-131.
- Boadi, D. A., Wittenberg, K. M. & McCaughey, W. (2002b). Effects of grain supplementation on methane production of grazing steers using the sulphur (SF6) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 82 (2): 151-157.
- Brockman, H. (2013). *Managing pastures and stocking rate to reduce methane emissions from cattle*. <https://www.agric.wa.gov.au/sites/gateway/files/CFWANo%205web%202015.pdf>: The Department of Agriculture and Food, The Department of Regional Development and Lands (lest 30.11).
- Brown, D., Cole, T., Dauncey, M., Marrs, R. & Murgatroyd, P. (1984). Analysis of gaseous exchange in open-circuit indirect calorimetry. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 22 (4): 333-338.
- Cavanagh, A., McNaughton, L., Clark, H., Greaves, C., Gowan, J. M., Pinares-Patino, C., Dalley, D., Vlaming, B. & Molano, G. (2008). Methane emissions from grazing Jersey x Friesian dairy cows in mid lactation. *Methane emissions from grazing Jersey x Friesian dairy cows in mid lactation* (1): 230-233.
- Cecava, M. J. (1995). Rumen physiology and energy requirements. *Beef Cattle Feeding and Nutrition*, 2.
- Church, D. C. (1988). Ruminant Fermentation. I: *The Ruminant animal : Digestive Physiology and Nutrition*, s. 145-171. Englewood Cliffs, N.J: Prentice-Hall.
- Deighton, M. H., O'Loughlin, B. M., Williams, S. R. O., Moate, P. J., Kennedy, E., Boland, T. M. & Eckard, R. J. (2013). Declining sulphur hexafluoride permeability of polytetrafluoroethylene membranes causes overestimation of calculated ruminant methane emissions using the tracer technique. *Animal Feed Science and Technology*, 183 (3–4): 86-95.
- DeRamus, H. A., Clement, T. C., Giampola, D. D. & Dickson, P. C. (2003). Methane Emissions of Beef Cattle on Forages. *Journal of Environmental Quality*, 32 (1): 269-277.

- Douglas, F. (1999). GC/MS Analysis Tilgjengelig fra: <http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html> (lest 11.12.2015).
- Dove, H. (1992). Using the n-alkanes of plant cuticular wax to estimate the species composition of herbage mixtures. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43 (8): 1711-1724.
- Dove, H. & Mayes, R. W. (2005). Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 59 (2-3): 123-139.
- Enriquez-Hidalgo, D., Gilliland, T., Deighton, M. H., O'Donovan, M. & Hennessy, D. (2014). Milk production and enteric methane emissions by dairy cows grazing fertilized perennial ryegrass pasture with or without inclusion of white clover. *Journal of Dairy Science*, 97 (3): 1400-1412.
- Fløystad, R. B. & Trötsche, T. (2014). Miljøstatus i landbruket for 2013. Statens landbruksforvaltning.
- Forbes, J. M. & France, J. (1993). *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. Wallingford: CAB International.
- Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D. W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D. C. & Myhre, G. (2007). Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. Chapter 2. I: *Climate Change 2007. The Physical Science Basis*.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A. & Tempio, G. (2013). Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Rome.
- Grainger, C., Clarke, T., McGinn, S. M., Auld, M. J., Beauchemin, K. A., Hannah, M. C., Waghorn, G. C., Clark, H. & Eckard, R. J. (2007). Methane Emissions from Dairy Cows Measured Using the Sulfur Hexafluoride (SF₆) Tracer and Chamber Techniques. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2755-2766.
- Grønlund, A. & Harstad, O. (2014). Klimagasser fra jordbruket. Kunnskapsstatus om utslippskilder og tiltak for å redusere utslippene Bioforsk Rapport. 50 s.
- Harper, L. A., Denmead, O. T. & Flesch, T. K. (2011). Micrometeorological techniques for measurement of enteric greenhouse gas emissions. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 227-239.
- Helgesen, R. M.-L. (2011). *Endringer i geitenes beitepreferanser og fôropptak gjennom beitesesongen*. <http://brage.bibsys.no/xmlui/handle/11250/185955>: Universitet for Miljø- og Biovitenskap., Institutt for Husdyr- og akvakulturvitenskap.
- Hook, S. E., Wright, A.-D. G. & McBride, B. W. (2010). Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies. *Archaea*, 2010.
- Hoover, W. H. & Miller, T. K. (1991). Rumen Digestive Physiology and Microbial Ecology. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 7 (2): 311-325.
- Hungate, R. E. (2013). *The rumen and its microbes*: Elsevier.
- IPPC. (2013). Summary for policymakers. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. I: (Stocker, T. F., Qin, G.-K., Plattner, M., Tignor, S.K., Allen, J., Boschung, A., Nauels, Y., Xia, V., Bex & Midgley), P. M. (red.)*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- IPPC. (2014). Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change I: Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, et al. (red.)*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Jenkins, T. C. (1993). Lipid Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 76 (12): 3851-3863.
- Jiao, H., Dale, A., Carson, A., Murray, S., Gordon, A. & Ferris, C. (2014). Effect of concentrate feed level on methane emissions from grazing dairy cows. *Journal of dairy science*, 97 (11): 7043-7053.
- Johnson, K., Huyler, M., Westberg, H. & Lamb, B. (1994). Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environmental Science and Technology*, 28 (2).

- Johnson, K., Westberg, H., Michal, J. & Cossalman, M. (2007). The SF6 tracer technique: Methane measurement from ruminants. I: *Measuring methane production from ruminants*, s. 33-67: Springer.
- Johnson, K. A. & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Methane emissions from cattle*, 73 (8): 2483-2492.
- Kumar, S., Puniya, A. K., Puniya, M., Dagar, S. S., Sirohi, S. K., Singh, K. & Griffith, G. W. (2009). Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies.(Report). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (9): 1557.
- Lassey, K. R., Ulyatt, M. J., Martin, R. J., Walker, C. F. & David Shelton, I. (1997). Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmospheric Environment*, 31 (18): 2905-2914.
- Lee, J., Woodward, S., Waghorn, G. & Clark, D. (2004). *Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (Trifolium repens) in pasture*. Proceedings of the New Zealand Grassland Association. 151-155 s.
- Liu, Y. & Whitman, W. B. (2008). Metabolic, Phylogenetic, and Ecological Diversity of the Methanogenic Archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125 (1): 171-189.
- Lovley, D. R., Greening, R. C. & Ferry, J. G. (1984). Rapidly growing rumen methanogenic organism that synthesizes coenzyme M and has a high affinity for formate. *Applied and Environmental Microbiology*, 48 (1): 81.
- Madsen, J., Bjerg, B. S., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. & Lund, P. (2010). Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. *Livestock Science*, 129 (1-3): 223-227.
- Marianne, K. & Cathrine, A. (2007). Klimatilpasning Norge. *Plan*, 39 (06): 28-31.
- Mathison, G., Okine, E., McAllister, T., Dong, Y., Galbraith, J. & Dmytruk, O. (1998). Reducing methane emissions from ruminant animals. *Journal of Applied Animal Research*, 14 (1): 1-28.
- Mayes, R., Lamb, C. & Colgrove, P. M. (1986). The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *The Journal of Agricultural Science*, 107 (01): 161-170.
- McDonald, P. (2002). *Animal nutrition*: Pearson education.
- McGinn, S. M. (2006). Assessment of the Sulfur Hexafluoride (SF6) Tracer Technique for Measuring Enteric Methane Emissions from Cattle. *Journal of Environmental Quality*, 35 (5): 1686-1691.
- Miller, W. J. (2012). *Dairy cattle feeding and nutrition*: Elsevier.
- Moate, P., Deighton, M., Ribaux, B., Hannah, M., Wales, W. & Williams, S. (2015). Michaelis-Menten kinetics predict the rate of SF 6 release from permeation tubes used to estimate methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 200: 47-56.
- Molstad, L., Dorsch, P. & Bakken, L. R. (2007). Robotized incubation system for monitoring gases (O2, NO, N2O N2) in denitrifying cultures. *J Microbiol Methods*, 71 (3): 202-11.
- Moran, J. (2005). How the rumen works. I: *Tropical dairy farming: feeding managemnet for small holder dairy farmers in humid tropics*, s. 312: Landlinks Press.
- Morgavi, D. P., Forano, E., Martin, C. & Newbold, C. J. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4 (7): 1024-1036.
- Moss, A. R., Jouany, J.-P. & Newbold, J. (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49 (3): 231-253.
- Murray, R., Bryant, A. & Leng, R. (1976). Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*, 36 (01): 1-14.
- Nadeem, S., Almås, Å. R., Dörsch, P. & Bakken, L. R. (2013). Sequential extraction of denitrifying organisms from soils; strongly attached cells produce less N2O than loosely attached cells. *Soil Biology and Biochemistry*, 67 (0): 62-69.
- Pinares-patiño, C. S. & Clark, H. (2008). Reliability of the sulfur hexafluoride tracer technique for methane emission measurement from individual animals: an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48 (2): 223.
- Pinares-Patiño, C. S., Holmes, C., Lassey, K. & Ulyatt, M. (2008a). Measurement of methane emission from sheep by the sulphur hexafluoride tracer technique and by the calorimetric chamber: failure and success.

- Pinares-Patiño, C. S., Machmuller, A., Molano, G., Smith, A., Vlaming, J. B. & Clark, H. (2008b). SF6 tracer technique for measurements of methane emission from cattle--effect of tracer permeation rate. *SF6 tracer technique for measurements of methane emission from cattle--effect of tracer permeation rate*, 88 (2): 309-320.
- Reeve, J. N., Nölling, J., Morgan, R. M. & Smith, D. R. (1997). Methanogenesis: genes, genomes, and who's on first? *Journal of bacteriology*, 179 (19): 5975.
- Rosen, R. A. & Guenther, E. (2015). The economics of mitigating climate change: What can we know? *Technological Forecasting & Social Change*, 91: 93-106.
- SAS. (2011). *Institute Inc. SAS/STAT User*s Guide*. Cary NC: SAS. Institute Inc.
- Scott, R. P. (1997). *Introduction to Analytical Gas Chromatography, Revised and Expanded*: CRC press. Tilgjengelig fra: https://books.google.no/books?id=AGUmzY9iZw8C&pg=PA386&lpg=PA386&dq=the+disadvantages+of+Gas+Chromatography&source=bl&ots=WnG3Q-CoMw&sig=IvD9IObTb71_401il4IBcs4We5Q&hl=no&sa=X&ved=0ahUKEwjokI7X39PJAhXEXCwKHQPbAWM4ChDoAQg7MAQ#v=onepage&q=the%20disadvantages%20of%20Gas%20Chromatography&f=false (lest 11.12.2015).
- Sharp, R., Ziemer, C. J., Stern, M. D. & Stahl, D. A. (1998). Taxon-specific associations between protozoal and methanogen populations in the rumen and a model rumen system. *FEMS Microbiology Ecology*, 26 (1): 71-78.
- Sirohi, S. K., Pandey, N., Singh, B. & Puniya, A. K. (2010). Rumen methanogens: a review. *Indian Journal of Microbiology*, 50 (3): 253-262.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2010). The Digestive System. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 534-618.
- Stewart, C. S. (1991). *The Rumen Bacteria*. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Paris: INRA.
- Storlien, T., Prestløkken, E., Beauchemin, K., McAllister, T., Iwaasa, A. & Harstad, O. (2015). Supplementation with crushed rapeseed causes reduction of methane emissions from lactating dairy cows on pasture. *Animal Production Science*.
- Storm, I. M., Hellwing, A. L. F., Nielsen, N. I. & Madsen, J. (2012). Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. *Animals*, 2 (2): 160-183.
- Volden, H. (2011). *NorFor-The Nordic feed evaluation system*: Wageningen Academic Publishers Wageningen.
- Wattiaux, M. A. & Howard, W. T. (1999). Digestion in the dairy cow. *Dairy essentials, Babcock Institute for International Dairy Research and Development Dairy Essentials, University of Wisconsin-Madison*.
- Wims, C., Deighton, M., Lewis, E., O'Loughlin, B., Delaby, L., Boland, T. & O'Donovan, M. (2010). Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. *Journal of dairy science*, 93 (10): 4976-4985.
- Øygarden, L., Deelstra, J., Lagzdins, A., Bechmann, M., Greipsland, I., Kyllmar, K., Povilaitis, A. & Iital, A. (2014). Climate change and the potential effects on runoff and nitrogen losses in the Nordic-Baltic region. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 198: 114-126.

Vedlegg 1 Værdata





Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no