



Noregs miljø- og
biovitskaplege
universitet

Masteroppgåve 2022 30 stp
Fakultetet for biovitenskap

Fôrinntak, ete- og drøvtyggingsåtferd hjå NRF kyr gitt ein fullfôrrasjon med gradert nivå av raudalgar (*Asparagopsis taxiformis*)

Feed intake and eating/rumination behaviour of Norwegian Red dairy cows fed a total mixed ration with graded levels of red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*)

Emma Nyløy
Husdyrvitenskap

Fôrinntak, ete- og drøvtyggingsåtferd hjå NRF
kyr gitt ein fullfôrrasjon med gradert nivå av
raudalgar (*Asparagopsis taxiformis*)

Av

Emma Nyløy

Institutt for husdyr – og akvakulturvitskap, NMBU

Fakultetet for biovitenskap

Norges miljø og biovitenskaplege universitet

Mai 2022

Føreord

Denne oppgåva vart skriven våren 2022 ved Institutt for husdyr- og akvakulturvitskap ved Noregs miljø- og biovitskaplege universitet (NMBU) på Ås. Forsøk og analysar knytt til masteroppgåva blei finansiert av Noregs forskningsråd gjennom prosjektnummer 4205000147 («SeaCow: promoting ‘efficient, low emitting’ cows through nutritional manipulation of the rumen microbiome»). Oppgåva set strek for fem fantastiske år som husdyrvitskapsstudent, og eg har definitivt ikkje angra på valet om å byrja her på NMBU. Eg er oppvaksen på eit mjølkebruk, og interessa for storfe har vore der heile vegen. Det har derfor vore heilt nydeleg å kunne avslutta sivilagronomutdanninga med å skriva ei masteroppgåve innan nettopp storfe.

Eg ynskjer å retta ein stor takk til min hovudrettleiar, Alemayehu Kidane Sagaye som gav meg tillita til å bli med på forsøket, og som verkeleg har stilt opp og hjelpt med statistiske analysar og konkrete innspel på oppgåva mi. Tusen takk! Vidare vil eg gjerne takka Egil Prestløyken og Margrete Eknæs for god hjelp med oppgåveskrivinga. Ikkje minst ein stor takk til storesyster Karoline Nyløy for korrekturlesing.

Åra her på Ås har gjett meg så ufatteleg mykje, og eg vil òg gjerne retta ein stor takk til alle mine medstudentar, professorar, gjengen på stallet og ikkje minst mine jobbkollegaar på Senter for Husdyrforsøk og Stoffskifteavdelinga, de har vore gull verdt!

Institutt for husdyr – og akvakulturvitskap, NMBU

Ås, 15. mai 2022

Emma Nyløy

Samandrag

Denne oppgåva består av ein litteraturdel og ein forsøksdel. Litteraturdelen tek i hovudsak føre seg faktorar som påverkar ete- og drøvtyggingsåtferda til kyr, samt litt generelt om fordøyingsystemet, mjølkeproduksjon og bruk av fôrtilsetningsmiddel. Forsøksdelen er eit fôringsforsøk med *Asparagopsis taxiformis*, som i tidlegare forsøk har redusert utslepp av enterisk metan frå storfe, men på same tid redusert fôrinntaket. Målet med dette forsøket har derfor våre å sjå nærare på ete- og drøvtyggingsåtferda, samt mjølkeproduksjonen.

I forsøket deltok 15 kyr i 2. til 4. laktasjon av rasen Norsk Raudt Fe i tidleg- til midtlaktasjon, med eit snitt (\pm SD) på 676 \pm 55 kg kroppsvekt, 32,1 \pm 3,7 kg mjølk/dag og 95 \pm 27 dagar i mjølk ved forsøksstart. Forsøket gjekk over 74 dagar, der dei fyrste 21 dagane fungerte som ein forperiode der alle kyrne fekk moglegheit til å tilpassa seg ein felles diett. Kyrne blei så delt i tre grupper på fem kyr og tilfeldig fordelt på tre fullfôrassjonar (65 % grovfôr og 35 % kraftfôr) med ulik tilsetjing av raudalgar (*Asparagopsis taxiformis*, AT); 0 % AT (Kontroll), 0,125 % AT og 0,25 % AT på organisk stoff basis. Deretter brukte ein 13 dagar til tilvenning til AT (tilvenningsperiode), og dei resterande 38 dagane til sjølve forsøket (forsøksperiode). Under forsøket blei alle kyrne utstyrt med RumiWatch tyggegrimer, og over to periodar blei det måla ulike ete- og drøvtyggingsvariablar. Vidare såg ein på påverknad på mjølkeavdrått og kjemisk innhald i mjølka.

I dette forsøket såg ein at sjølv små mengder tilsetjing av *A. taxiformis* har effekt på ete- og drøvtyggingsåtferd. Forsøksperioden synte at den høgaste tilsetjinga med 0,25 % AT på organisk stoff basis, gav redusert inntak av både tørrstoff ($P = 0,012$) og NDF ($P = 0,020$), som vidare blei reflektert i forlenga tid til eting (min/dag) med hovudet nede ($P = 0,021$). Forlenga eting med hovudet nede blei òg observert for 0,125 % AT. Kyrne i 0,25 % AT gruppa hadde høgare ($P = 0,010$) totalt spyttvolum (milliliter per gram tørrstoffinntak, TSI). Vidare gav begge algegruppene auka etetid med hovud nede (min/kg TSI) ($P = 0,004$) og drøvtyggingstid (min/kg inntak av TS/NDF) ($P = 0,010$). Algegruppene gav redusert mjølkeavdrått ($P < 0,001$), og redusert konsentrasjon av feitt ($P = 0,018$) og protein ($P = 0,010$), men auka laktose ($P = 0,021$). Dette førte igjen til redusert yting (kg/dag) av feitt ($P = 0,002$), protein ($P < 0,001$), laktose ($P = 0,002$) og EKM ($P < 0,001$).

Til tross for eit endra ete- og drøvtyggingsmønster, hovudsakleg i form av forlenga etetid med hovudet nede, var begge forsøksdiettane innanfor normale tidsintervall samanlikna med andre

forsøk. Resultata her, sett saman med tidlegare forsøk, kan indikera at tilsetjing av *A. taxiformis* opp til 0,20 - 0,25 % AT på OM basis kan fungera greitt utan for store påverknadar på fôrinntaket. Forsøket synte at tilsetjing av *A. taxiformis* hadde negativ innverknad på kyrne si yting. Det bør derfor gjerast ytterlegare arbeid for å vurdere dei meir langsiktige effektane på dyrehelsa og produksjonen.

Abstract

This thesis consists of a literature section and an experimental section. The literature section mainly deals with factors influencing eating and rumination behaviour of cows, as well as some general points around the digestive system, milk production and the use of feed additives. The experimental part is a feeding experiment with *Asparagopsis taxiformis*, which in previous experiments has proven a potential for reducing enteric methane emissions from cattle, while at the same time reducing feed intake. The aim of this experiment is therefore to take a closer look at eating and ruminating behaviour, as well as milk production in Norwegian Red dairy cows.

15 Norwegian Red dairy cows in 2nd to 4th lactation (early to middle lactation) with an average (\pm SD) of 676 ± 55 kg body weight, 32.1 ± 3.7 kg milk/day and 95 ± 27 days in milk participated in the experiment. The experiment lasted 74 days. The first 21 days served as a pre-period where all the cows were given the opportunity to adapt to a common diet. The cows were then divided into three groups of five cows and randomly allocated to one of the three experimental diets prepared in the form of a total mixed ration (TMR, 65 % roughage and 35 % concentrate) with different inclusion of red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*, AT); 0 % AT (Control), 0,125 % AT and 0,25 % AT on organic matter basis (OM). The cows spent 13 days getting used to AT (adaptation period), and the remaining 38 days for the experiment itself (experimental period). During the experiment, all cows were equipped with RumiWatch chewing halters, and different eating and ruminating variables were measured over two periods. Furthermore we looked at the effect on milk production and chemical composition of the milk.

In this experiment it was observed that even small amounts of the addition of *A. taxiformis* had an effect on eating and ruminating behaviour. The experimental period showed that the highest addition with 0,25 % AT on OM basis, resulted in reduced intake of both dry matter ($P = 0,012$) and NDF ($P = 0,020$), which was further reflected in extended eating time (min/day) with the head down ($P = 0,021$). Extended eating time with the head down were also observed for 0,125 % AT. The cows in the 0,25 % AT group had a higher ($P = 0,010$) total saliva volume (millilitres/gram dry matter intake, DMI). Furthermore, both seaweed diets gave increased eating time with head down (min/kg DMI) ($P = 0,004$) and ruminant time (min/kg DMI/ NDF intake) ($P = 0,010$). The seaweed diets resulted in reduced milk yield ($P < 0,001$), and reduced concentration of fat ($P = 0,018$) and protein ($P = 0,010$), but increased lactose ($P = 0,021$). This

in turn led to reduced yield (kg/day) of fat ($P = 0,002$), protein ($P < 0,001$), lactose ($P = 0,002$) and EKM ($P < 0,001$).

Despite a different eating and rumination pattern, mainly in form of extended eating time with the head down, both experimental diets were within the normal time interval compared with other experiments. The results here, compared with previous experiments, may indicate that the addition of *A. taxiformis* up to 0,20 – 0,25 % AT on an OM can work well without too great an impact on feed intake. In general, however, further work should be done to assess the more long-term effects on animal health and production.

Forkortingar

3 NOP	3-nitrooxypropanol
AT	<i>Asparagopsis taxiformis</i>
CH ₄	Metan
DIM	Dagar i mjølk
EKM	Energikorrigert mjølk
FVI	Fritt vassinntak
MY	Mjølkeavdrått
NDF	Nøytralløyseleg fiber
NDFi	Ufordøyeleg NDF
NDFI	Inntak av NDF
NRF	Norsk raudt fe
OM	Organisk stoff
pdNDF	Potensiselt nedbrytbar NDF
SE	Standardfeil
SD	Standardavvik
TI	Tyggetidsindeks
TS	Tørrstoff
TSI	Tørrstoff inntak

Innhald

Føreord	IV
Samandrag	V
Abstract	VII
Forkortingar.....	IX
Innhald.....	X
1. Innleiing	1
2. Bakgrunn	3
2.1 Fordøyingskanalens oppbygning og funksjon	3
2.2 Regulering av fôrinntak	5
2.3 Eigenskapar ved fôret	6
2.4 Måling av fôrinntak	8
2.5 Fôringsstrategiar	8
2.6 Ete- og drøvtyggingsaktivitet	9
2.7 Registrering av ete- og drøvtyggingstid	10
2.8 Mjølkeproduksjon.....	12
2.9 Bruk av fôrtilsetjingsmiddel for å redusera metan	13
3. Material og metode.....	14
3.1 Forsøksdyr og eksperimental utføring	14
3.2 Fôr, fôring og fôrprøvar.....	15
3.3 Vassopptak.....	17
3.4 Mjølkeavdrått og mjølkeprøvar	17
3.5 Registrering av tyggetid og drikkeåtfærd	17
3.6 Kjemiske analysar.....	18
3.7 Berekningar og statestikk	19
3.7.1 Berekningar.....	19

3.7.2 Statistikk	20
4. Resultat.....	22
4.1 Fôr og vassinntak	23
4.2 Ete- og drøvtyggingsåtferd.....	23
4.3 Tyggetidsindeks og andre parameter for tyggetid.....	26
4.4 Spyttproduksjon	28
4.5 Mjølke.....	29
5. Diskusjon.....	30
5.1 Tilvenningsperioden	30
5.2 Forsøksperioden.....	32
5.2.1 Fôr- og vassinntak.....	32
5.2.2 Ete og drøvtyggingsåtferd.....	33
5.2.3 Mjølkeproduksjon og kjemisk samansetnad	35
5.3 Kjelder til variasjon i ete- og drøvtyggingsåtferd.....	35
5.4 Vegen vidare.....	36
6. Konklusjon	38
7. Litteraturlista	39
Vedlegg	47
Vedlegg 1: Abstrakt i ISEP 2022	47

1. Innleiing

Landbruket har ei sentral rolle når det kjem til matproduksjon over heile verda (Moraes et al., 2014), og dagens husdyrproduksjon bidreg fyrst og fremst med kjøt og mjølk til ei stadig aukande befolkning. Produksjonen medfører imidlertid utslepp av klimagassar, i form av enterisk metan (CH₄) (Muizelaar et al., 2021). I Noreg er utsleppet av drivhusgassar frå landbruk redusert med 6,4 % i perioden 1990 til 2020 (Miljødirektoratet, 2020). Likevel arbeider landbruket kontinuerleg med å senka utsleppa meir. Ved å signera Paris- avtalen i 2015 anerkjende Noreg å arbeida for grønne løysingar utan å truga den nasjonale matproduksjonen (Parisavtalen, 2016). Eit slikt arbeid involverer mellom anna endring av fôringa, som vidare kan påverka åtferdsaktivitetar, som tid brukt til eting og drøvtygging, eller produksjonsresponsar, som for eksempel mjølkeavdrått.

I følgje Beauchemin et al. (2008) er ei endring av dietten den mest effektive måten å senka utsleppet av metan frå drøvtyggarar. Mellom anna kan bruk av ulike antimetanogene forbindelsar i fôret gje redusert klimagassutslepp (Li et al., 2016). Dei siste åra har fôrtilsetningsmiddel som feitt, 3-nitrooksypropanol (3 NOP) og sjøalgar fått auka fokus som verkemiddel for å redusera enterisk metan. Det er likevel verdt å merka seg at ein del av studiane som er utførte er kortsiktige, og hovudsakleg fokuserer på reduksjon av CH₄ (Beauchemin et al., 2008; Hristov et al., 2013). Dei meir langsiktige påverknadane som til dømes ete- og drøvtyggingsåtferd, og ikkje minst at smakelegheita til fôret kan påverkast slik at fôrinntaket reduserast, har fått mindre fokus i desse studiane.

Bruk av algar som fôrtilsetjing til dette føremålet er relativt nytt, og kva type algar som eignar seg, vil avhenga av den kjemiske samansetnaden til ulike artar (Stefenoni et al., 2021). Sjølv om fleire fôringsforsøk med ulike raudalgar har synt potensiale for å redusera metanutslepp hjå kyrne (Muizelaar et al., 2021; Roque et al., 2019; Stefenoni et al., 2021), har ikkje ete- og drøvtyggingsåtferda vore vurdert av det me har funne. Målet med denne oppgåva er derfor å vurdere effekten av å inkludera raudalgar, nærare bestemd, *Asparagopsis taxiformis*, på fôrinntak, ete- og drøvtyggingsåtferd og mjølkeavdrått hjå NRF kyr som vert fôra med ein fullfôrrasjon med gradert nivå av raudalgar. Forsøket blei utført i perioden mars til mai 2021 ved Stoffskifteavdelinga ved Fakultetet for Biovitenskap (BIOVIT), NMBU. I alt blei 15 NRF mjølkekyr fôra med 0 %, 0,125 % og 0,25 % tilsetjing av *A. taxiformis* på organisk stoff basis (OM), der ete- og drøvtyggingsåtferd blei måla over to periodar med RumiWatch tyggegrimer (Itin+Hoch GmbH, Liestal, Sveits).

Hypotesane var følgjande:

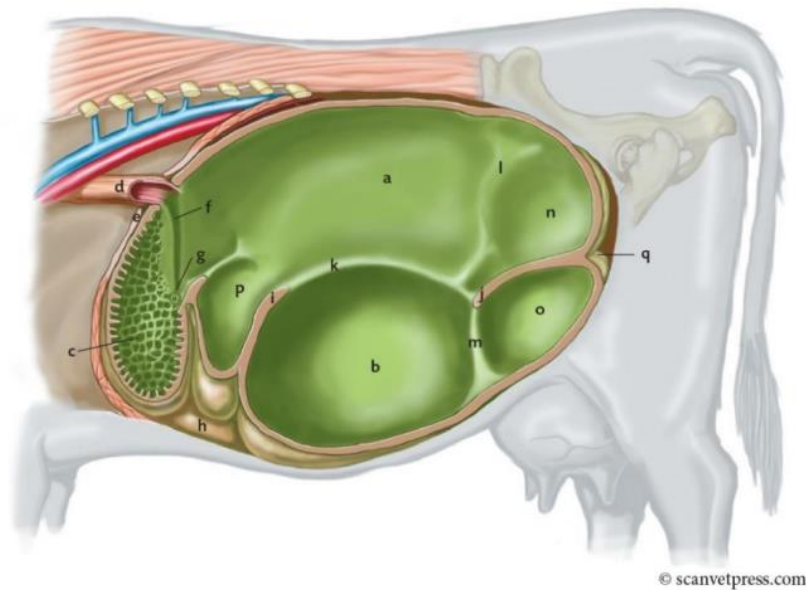
- Tilsetjing av *Asparagopsis taxiformis* reduserer fôrintaket og endrar ete- og drøvtyggingsåtferda (dvs. eting, drøvtygging, drikking) til kyrne.
- Effekten på fôrintak og ete- og drøvtyggingsåtferda vil avhenga av tilsetjingsnivået av *Asparagopsis taxiformis*.
- *Asparagopsis taxiformis* i fôrrasjonen har negativ innverknad på mjølkekuas yting

2. Bakgrunn

Det har vore ei betydeleg auke i mjølkeproduksjonen, frå kring 3500 kg mjølk per årsku i 1950, til kring 8500 kg årsavdrått hjå dagens mjølkekyr (SSB, 2012). Dette set eit høgt krav til fôret for å dekkja eit auka energi- og næringsbehov, i fyrste rekkje energi og protein. For å dekkja næringsbehovet vert fôrrasjonane til ei mjølkeku normalt samansett av grovfôr og kraftfôr, der innhald av karbohydrat, protein og feitt er viktigast kvantitativt (Sjaastad et al., 2016). Desse næringsstoffa vert omsett dels i vom og dels i tarm og spelar ei viktig rolle for kua si evne til opptak av næring (Volden, 2011b). Kjennskap til inntak av fôr, og kva dette består av, er sentralt i så måte. Dei følgjande avsnitta vil ta føre seg faktorar som påverkar fôrinntaket og korleis fôrinntaket kan målast.

2.1 Fordøyingskanalens oppbygning og funksjon

Drøvtyggarane er veldig ressurssterke ved at dei kan utnytte store mengder fiberrike plantemateriale som til dømes gras (Nørgaard & Hvelplund, 2003). Dette avspeglast i fordøyingskanalen ved at dei har nokre utbuktningar på eterøyret, kalla formagar. Formagane kan vidare delast inn i vom, nettmage og bladmage (Figur 1) (Sjaastad et al., 2016). Vomma utgjer det største arealet, og er tett bunde saman med nettmagen, slik at desse i praksis utgjer ei funksjonell eining. Bladmagekanalen/opninga mellom nettmage og bladmage er plassert ca. 16 cm under utbuktninga til eterøyret (Nørgaard & Hvelplund, 2003). Kontraksjonar av vomma sørgjer for miksing av innhaldet i vomma (primærkontraksjonar), men er òg relatert til drøvtygging og utslepp av gassar frå fermenteringa (sekundære kontraksjonar) (Sjaastad et al., 2016). Når fôrpartiklane er 1-2 mm sørgjer rytmiske kontraksjonar av vom og nettmage for passasje frå nettmagen over til bladmagen. Vidare fordøying og absorpsjon av næringsstoff går føre seg i løypen, tynntarmen og tjukktarmen (Sjaastad et al., 2016).



Figur 1: Illustrasjonsframstilling av formagane til drøvtyggaren. Vomma (a) med sine mange segment (b,n,o,p), nettmagen (c) og bladmageopninga (g) som leiar ut til bladmagen (Sjaastad et al., 2016).

Fordøyinga startar i munnhola, ved at fôret ved hjelp av tunga og tennene vert mekanisk brote ned i mindre partiklar og blanda med spytt, slik at det vert enklare å transportera ned i formagane. Kua et meir eller mindre halve døgnet (Nørgaard, 2003a), der eksempelvis 4-7 timar går til sjølve etinga, medan 5-9 timar går til drøvtygging (Beauchemin, 1991). Kyrne tygg mellom 30 000 til 50 000 tygg per dag (Beauchemin, 1991). Tygginga bidreg med å redusera partikkelstorleiken på fôret, som er viktig for å auka arealet av fôrpartikkelen slik at den vert lettare tilgjengeleg for mikrobiell nedbryting i vomma (Sjaastad et al., 2016) og vidare passasje til bladmagen. Drøvtygginga skjer typisk i 10 til 20 periodar per dag, der kvar periode kan vara i alt frå eitt minutt til over to timar (Beauchemin, 1991; Nørgaard, 2003a). Under drøvtygginga gulpast det opp fôrbolusar frå det øvste flytelaget i vomma, og som vidare tyggast i 30- 60 sekundar før dei svelgast att.

Det er vanleg å kategorisera mikroorganismane i formagane som bakteriar, protozoar og sopp. Bakteriane utgjer største delen av mikroorganismane, og delast inn i amylolytiske-, cellulolytiske- og proteolytiske bakteriar (Sjaastad et al., 2016). Frå fermenteringa i formagane vert det mellom anna produsert flyktige feittsyrer (VFA) i form av eddiksyre, propionsyre og smørsyre (Kristensen et al., 2003), som er ei viktig energikjelde for drøvtyggaren (McDonald et al., 2011).

Næringsopptaket skjer hovudsakeleg i vom og tarm, og jo meir kua et, desto meir næring vert absorbert frå tarmen, som gjer at kua til ein viss grad kontrollerer energitilføringa via fôrinntaket (Sjaastad et al., 2016). Eit grunnleggande prinsipp er at alle dyr/organismar må ha tilgang på fôr i ein eller annan form, slik at dei får nok energi til å overleva (og reprodusera). I følgje Thoma et al. (2017) følger fordøying av fôr tre prinsipp; 1. dyret må bestemma seg for om det faktisk vil eta fôret det vert tildelt, 2. om dyret bestemmer seg for å eta, må det utføra åtferdssekvensar, slik som til dømes bruk av kjeve og tunge og 3. på same tid som anna konkurrerande åtferd (som for eksempel rørsle) vert undertrykt slik at dyret kan fokusera på å eta.

2.2 Regulering av fôrinntak

Frivillig fôrinntak har mykje å seia for korleis kua presterer (Ingvartsen, 1994), og drøvtyggarane har gjennom den relativt langsame mikrobielle fordøyinga i formagane, utvikla ei selektiv evne for tilbakehalding av tungt fordøyeleg fiber i vomma, slik at mikrobane får tid til å bryta ned fôret (Ingvartsen & Kristensen, 2003). Ein slik mekanisme gjer at kapasiteten til formagane i nokre tilfelle vil setja grenser for kor mykje fôr kyrne kan eta, og vert derfor ofte omtala som ei fysisk regulering av fôrinntaket. På same tid fann Rinne et al. (2002) at nokre av kyrne stoppa å eta før kapasiteten til vomma var full, noko som tyder på at fyllgraden på vomma åleine ikkje er ansvarleg for fôrinntaket, og at det derfor må vera andre faktorar som spelar inn. Det vil derfor vera lurt å ta omsyn til både fysiske og metabolske faktorar når ein skal vurdere fôrinntak (Rinne et al., 2002; Volden et al., 2011).

Predikering av fôrinntak er truleg ein av dei viktigaste faktorane for å optimera ein fôrrasjonen, slik at kuas produksjonskapasitet kan utnyttast maksimalt (Volden et al., 2011). Fôrinntaket vert påverka av både faktorar ved dyret, fôret og miljø (Ingvartsen, 1994; Ingvartsen & Kristensen, 2003). Døme på eigenskapar som er viktige i samband med fôrinntak kjem nærare fram av Tabell 1. Mellom anna vil passasjehastigheit, nedbrytingsgrad og reduksjon i partikkelstorleik ha mykje å seia på både fôrinntak og meltegrad (Rinne et al., 2002). Viktige eigenskapar ved dyret vil vera alt frå kroppsvekt, til fysiologisk stadium, om dyret er i vekst, drektig eller i laktasjon, hald, laktasjonsstadium og så vidare (Volden et al., 2011). Eigenskapar ved fôret kan for eksempel vera tørrstoffinnhald (TS), fermenteringskvalitet, meltegrad og smakelegheit, medan oppstallingsform, fôringsfrekvens og temperatur er viktige miljøparameter (Ingvartsen, 1994).

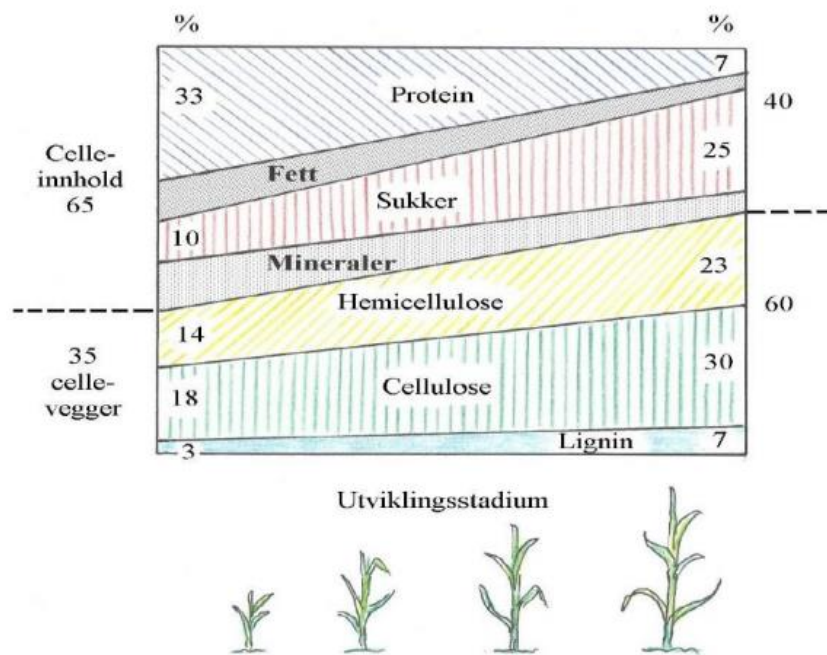
Tabell 1: Faktorar med potensiale for å påverka fôrinntaket (Ingvartsen, 1994).

Faktorar ved dyret	Faktorar ved fôret	Mangement og miljø
Rase	Diettsamansetnad	Timar med tilgang til fôret
Kjønn	Kjemisk innhald	Fôringsfrekvens
Levandevekt	Meltegrad (fordøyelegheit)	Separat fôring/fullfôr
Alder	Nedbrytingsprofilar	Anabole tilsetningsmiddel
Laktasjonsnummer	Passasjehastigheit	Fôrtilsetningsmiddel
Mjølkeavdrått	Fysisk form/struktur	Mineralske salt, bufferar
Laktasjonsstadium	Konserveringsmåte	Båsfjøs/lausdrift
Drektigheit	Innhald av tørrstoff	Beleggsprosent
Tidlegare fôring	Fermenteringskvalitet	Daglengde/lys
Kroppshald	Smakelegheit	Temperatur
Fedme		

2.3 Eigenskapar ved fôret

Eit grovfôr av god kvalitet er viktig både med tanke på vekst og mjølkeproduksjon, og kan definerast som ein funksjon av både fôr kvalitet og meltegrad (Paterson et al., 1994). Kvaliteten på hausta gras vil påverkast av både plantart, utviklingsstadium og haustetidspunkt (Mo, 2005). Artssamansetnaden av enga har mykje å seia for fôr kvaliteten, med tanke på at ulike planter har ein unik morfologi, næringssamansetnad og vekstmønster (Nelson & Moser, 1994). Dette er viktig å ta omsyn til i val av til dømes slåttetidspunkt. Vidare har temperatur og lys mykje å seia, og har som eit resultat av komplekse interaksjonar innverknad på kven av plantene (artane) som veks fram, og kor fort dei veks (Buxton & Fales, 1994). Så lenge nedbør ikkje er ein avgrensande faktor, vil òg gjødsling påverka avlingsmengde og -kvalitet (Paterson et al., 1994).

Grasets utvekslingstrinn har mykje å seia for meltegrada av grovfôret, og det er vanleg å dela karbohydratane i graset inn i lettlyseleg, som ein fyrst og fremst finn i celleinnhaldet, og dei strukturdannande, som danner sjølve reisverket i planta (Mo, 2005). Protein og sukker er typisk lettlyselege og finst i stor grad i bladverket, medan hemicellulose, cellulose og lignin er viktige strukturkomponent og utgjer stengelandelen i planta (Volden, 2011b). Den strukturdannande fraksjonen kategoriserast som nøytralløseleg fiber (NDF), og vert i NorFor delt inn i ein potensielt nedbrytbar fraksjon (pdNDF) og ein totalt ufordøyeleg fraksjon (iNDF) (Volden, 2011b). Ved utsett hausting får ein eit høgare innhald av mellom anna lignin, som er veldig motstandsdyktig mot nedbryting i vomma (Mo, 2005), som vidare gjer at ein mindre andel av fôret vert fordøydd (Paterson et al., 1994). På same tid går dei meir lettfordøyelege fôrfraksjonane, som for eksempel protein ned. Ei skjematisk framstilling av grasets samansetnad ved ulike utviklingsstadium kan sjåast i Figur 2 (Osborn, 1980).



Figur 2: Kjemisk samansetnad av gras ved ulike fenologiske utviklingstrinn (Osborn, 1980).

Utsett haustetidspunkt gjer at plantene er komne lengre i den fenologiske utviklinga, slik at innhald av mellom anna NDF og sukker går opp (Osborn, 1980). Innhaldet av sukker er i stor grad påverka av lystilgang og temperatur. Låg temperatur og god lystilgang er fordelaktig dersom ein ynskjer å oppnå eit gras med eit høgt sukkerinnhald, samt at det vil vera viktig med ei rask fortørking og på den måten bevare hovudandelen av sukkeret i graset (Mo, 2005). Auka innhald av NDF vil påverka meltegrada og energikonsentrasjonen til fôret negativt, samtidig som det er ein viktig strukturkomponent for å sikra eit godt miljø i vomma i form av god mikrobeaktivitet og balansert pH (Kristensen et al., 2003). Innhald av NDF har òg ei viktig rolle når det kjem til tyggeaktivitet. Frå De Boever et al. (1993) kan ein sjå at ein kilo NDF frå seint kutta gras gav ein meir effektiv stimulering av tyggeaktivitet, samanlikna med tidleg hausta gras.

I følge Mo (2005) vil meltegrada til eit fôrmiddel speglast att i fordøyingshastigheit og nedbrytingshastigheita av dei ufordøyelege partiklane i fôret. Eit fôr med høg meltegrad vil passera raskt gjennom fordøyingsssystemet, og på den måten vil kua kunne ta opp meir fôr. Eit høgare fôrinntak vil vera positivt, då inntak av tørrstoff er ein av hovudfaktorane som påverka mjølkeyting (Grant & Albright, 2000). Det er likevel verdt å merka seg at fyllgrada i vomma i stor grad påverkast av mengda med ufordøyelege fôrpartiklar (Ingvartsen & Kristensen, 2003),

og deira passasje ut av vomma. Dette kan forklarast med at ufordøyelege fôrpartiklar opptek plass i vomma, utan at kua kan nyttegjera seg av dei.

2.4 Måling av fôrinntak

Måling av fôrinntak er utfordrande, kanskje spesielt for grovfôret, ved at dei fleste fjøsane har eit felles fôrbrett, og det dermed er vanskeleg og tidkrevjande å ha gode målemetodar som sikrar eit korrekt resultat. For kraftfôret er det mykje lettare, då dei fleste gardane har eigne kraftfôrautomatar der ein får nøyaktige målingar på kor mykje kvar enkelt ku har ete. Ei måling av tørrstoffinntak på individnivå gjer det enklare å endra og tilpassa fôrdiettar. Dette gjer at ein for eksempel kan oppdaga manglande strukturelle fiber i rasjonen, eller som ei hjelp for å oppdaga fôringsrelaterte sjukdommar under eit tidlegare stadium (Kröger et al., 2016). Vidare kan det vera eit nyttig verktøy for å sjå kven av kyrne i buskapen som er fôreffektive, i form av å konvertera fôrinntak til mjølkeavdrått (Norbu et al., 2021). Fôrinntaket til kyrne vil òg vera ein viktig faktor med tanke på at det legg grunnlaget for seinare drøvtygging, då spesielt grovfôret stimulerer til meir drøvtygging, som vidare vil skapa høgare spyttproduksjon og igjen påverka meltegrada i vomma (Nørgaard, 2003a). For å få sikre registreringar for fôrinntaket, bør ein ha individuelle fôrkar til kvar ku, der ein kan måla både kor mange kg grovfôr kua faktisk et, og trekka i frå eventuelle restar. Dette er både tidkrevjande og kostbart, og er dermed ikkje vanleg praksis rundt om på gardane.

I det nordiske fôrevalueringssystemet NorFor bestemast fôrinntaket av eigenskapar ved dyret, som inngår i ein berekna opptakskapasitet, og eigenskapar ved fôret som inngår i berekning av ein fyllverdi (Volden, 2011a). Det predikerte fôrinntaket vert bestemd som den mengda med fôr, der fyllverdi er tilsvara dyrets opptakskapasitet (Volden et al., 2011). Kraftfôret har fått ein konstant fyllverdi (FV) på 0,22 FV/kg TS, medan fyllverdien til grovfôret avheng av meltegrada av organisk stoff, NDF- innhald i fôret og innhald av gjæringsprodukt i surfôret (Volden, 2011a).

2.5 Fôringsstrategiar

Det er vanleg å skilja mellom restriktiv og ad libitum fôring, som omsynsvis er at kyrne et opp alt fôret dei får eller at det ligg att fôrrestar ved neste fôring (Nørgaard, 2003a). Ad libitum fôring er rekna for å vera ein fôringsmetode som gir maksimalt fôrinntak hjå kyrne (og dermed auka produksjonsresponsar), og det er vanleg med 5-20 % restar (Nørgaard, 2003a). I følge Van Soest (1994) er ad libitum fôring som ein faktor på fôr kvalitet, ein av dei mest avgjerande faktorane som påverka dyreresponsen, hovudsakleg i form av effektivitet.

Ein fôringsstrategi som sikra god vomfunksjon er ein av tinga som er viktige for å oppretthalda ein effektiv mjølkeproduksjon og god helse på kyrne (Nørgaard et al., 2011a). Fôrintaket er til ein viss grad styrt av kva næringsstoff kua treng (Forbes, 2000). Mellom anna vil forholdet mellom grovfôr og kraftfôr i ein fôrrasjon påverka vommiljøet og gjæringsmønster i vomma (Kristensen et al., 2003). Utan nok struktur i fôrrasjonen, kan kua risikera å utvikla sur vom (vomacidose). Sur vom er ein tilstand der kua ikkje klara å kvitta seg med overflødig syreproduksjon, slik at pH-en i vomma synk, og i verste fall vert så låg at naturlege mekanismar i vomma stoppar opp, og kua døyr (Plaizier et al., 2008). I følgje Balch (1971) vil tyggetid, som summen av tid brukt til eting og drøvtygging (tyggetidsindeks), vera eit godt vurderingsmål for dei fysiske eigenskapane til grovfôret. Tyggetidsindeks vert ofte nytta som eit mål for å sikra god vomfunksjon (Nielsen & Volden, 2011), og vert nærare forklart i nesten delkapittel.

2.6 Ete- og drøvtyggingsaktivitet

Tyggetid vil seia den tida som kua brukar på å eta og tygga fôret, og vil mellom anna avhenga av kva type fôr kua et, kor lang tid ho brukar på å eta det opp, og kor lenge det vert drøvtygd (Nørgaard, 2003a). Mellom anna fann Holte (2017) auka drøvtyggingstid for seinare haustetidspunkt. Auka drøvtyggingstid er òg funne i samband med auka partikkelstorleik på grovfôret (Zebeli et al., 2007). Garmo et al. (2008) fann på den andre sida at kutting av surfôret auka fôropptaket til kyrne, men reduserte eting og total tyggetid per kg tørrstoff og NDF. Frå Tabell 2 kan ein sjå at andel lang halm spelar inn på kor mykje tid kua brukar til tygging.

Tabell 2: Partikkellengd av halm i fôrrasjonar til mjølkekyr, og påverknaden av ulike parametarar ved restriktiv fôring 12 gonger dagleg (Nørgaard, 2003a)

	Eining	Andel lang halm (%)		
		4	10	20
Fôrintak	kg tørrstoff/døgn	16	16	16
Etetid	min/døgn	83	85	104
Drøvtyggingstid	min/døgn	130	220	400
Samla tyggetid	min/døgn	220	310	510
Vommotorikk	tal på kontraksjonar/min	1,1	1,1	1,3
pH i vomsaft	pH	5,8	6,1	6,2
Nedbryting av formalt halm ved in-sacco i vom	%-nedbrote tørrstoff etter 48t	19	32	35

Tyggetid kan som nemnd vera ein god indikator i høve til vommiljøet, fordi tygginga vil stimulera til spyttproduksjon (Maekawa et al., 2002). Dagleg tyggeaktivitet (tygging + drøvtygging) på 8-16 timar vil generera 100-200 liter spytt (Nørgaard, 2003b). Med ein pH kring 8,2 vil spyttet fungera som ein buffer og dermed bidra til å oppretthalda optimal pH i vomma (Sjaastad et al., 2016). Dette bidreg til eit godt vommiljø med effektiv fermentering av organisk materiale og dermed god fiberfordøyelse (Beauchemin, 1991), og god

væskegjennomstrøyming i vomma (Nørgaard, 2003a). Spyttproduksjon har såleis stor påverknad i forbindelse med fôrinntak og kor godt fôret vert utnytta (Meyer et al., 1964), og vil variera mellom ulike diettar. Mellom anna synte ein studie gjort av Bailey og Balch (1961) at spyttproduksjonen var høgast for gras og lågast ved surfôr, medan høy kom i ein mellomstilling.

I følgje Nørgaard (2003a) er det ein nær samanheng mellom etehastigheit og spyttproduksjon, og etehastigheita vil vera påverka av forhold ved kua sjølv, fôret, fôringsregime og omgivadar. Eigenskapar ved fôret kan vera innhald av tørrstoff og NDF, smakelegheit og partikkelstorleik. Variasjonar ved kua kan mellom anna vera årsaka av skilnadar i produksjonspotensiale, inntakskapasitet/meltegrads-kapasitet, tyggeeffektivitet, kor svoltne kyrne er og kroppsvekt (Beauchemin, 1991; Nørgaard, 2003a). Ein må heller ikkje gløyma at det kan vera variasjonar mellom og innan dagar, som ofte skuldast variasjonar i fôrinntak, og som vil vera større dersom fôret er mala eller pelletert, enn om det er snakk om ubearbeida fôrmiddel (Beauchemin, 1991; Nørgaard, 2003a).

Etehastigheita (gram tørrstoff/ minutt) vil òg avhenga av kva type fôrmiddel det er snakk om. For eksempel vil kyrne raskt eta kraftfôr, 100-300 gram/ minutt, medan dei vil bruka betydeleg lengre tid på eit fôr med grovare struktur/større partikkelstorleik (Nørgaard, 2003a). I følgje Beauchemin (1991) et dei ikkje meir enn 20-50 gram TS/minutt dersom det er snakk om høy eller halm. Etehastigheita er som oftast høgast rett etter fôring og avtek mot slutten av måltidet (Beauchemin, 1991; Nørgaard, 2003a).

2.7 Registrering av ete- og drøvtyggingstid

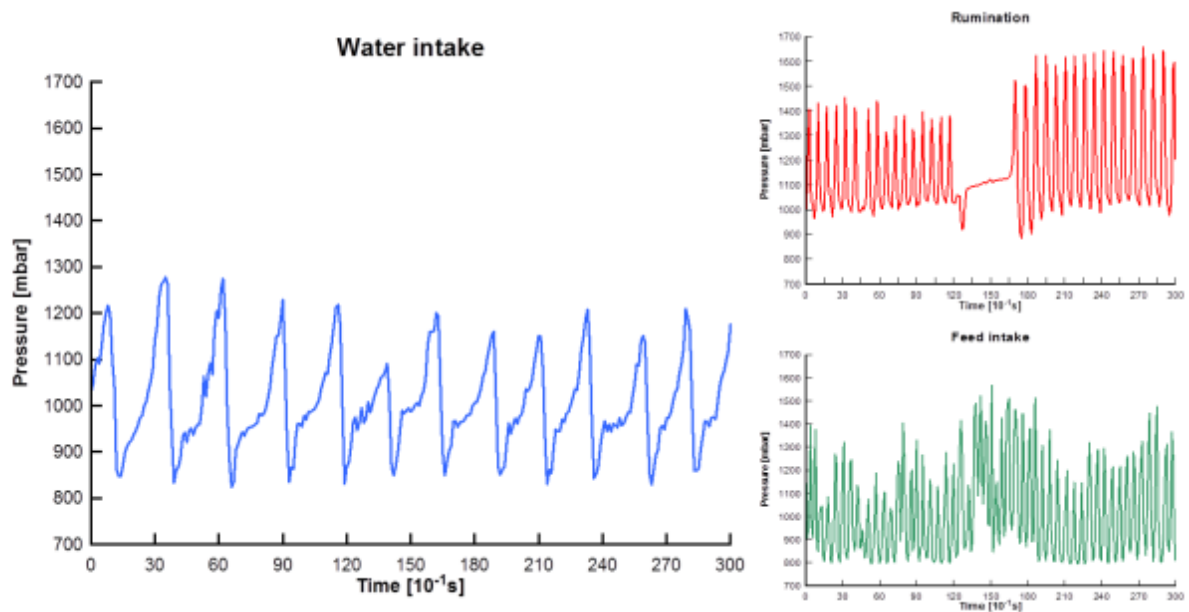
Manuell registrering av ete- og drøvtyggingstid er ein nøysam og kostnadskrevjande prosess, som krev at ein person sit og registrera kvar minste rørsle, og utelukkar derfor gjerne forsøk med store dyregrupper som går over lengre tid (Beauchemin et al., 1989). Elektroniske tyggetidsmålarar på den andre sida, registrerar døgnet rundt og krev berra straum i form av batteri. Både drøvtyggingsaktivitet og fôrinntak er viktige helseparameter for kyr, og det sensorbaserte systemet RumiWatch tyggegrimer (Itin + Hoch GmbH, Liestal, Sveits) (Figur 3) syter for automatiske målingar av mellom anna drøvtygging, fôr- og vassinntak på individnivå (Zehner et al., 2012). All informasjonen over aktivitetane vert lagra i ein boks på sida av grimene. Over nasen på grimene finn ein eit silikonrøyr som inneheld vegetabilsk olje, og har ein innebygd trykksensor, som dermed registrerer kva type rørsle kua gjer, som t.d. drøvtygging eller eting. Rådata frå grimene overførast enten trådløst eller ved bruk av SD- minnekort til ei datamaskin, og ved hjelp av ei programvara, RumiWatch Manager, kan ein lesa av tid brukt til

for eksempel drøvtygging (Zehner et al., 2012). Vidare produserer systemet spesifikke data som til dømes tygging per bolus.



Figur 3: Oversiktsbilete av ei ku med RumiWatch tyggegrime. Over nasen på grimene finn ein eit silikonrør som inneheld vegetabilsk olje, og har ein innebygd trykksensor som dermed registrerer kva type rørsle kua gjer, som t.d. drøvtygging eller eting (Zehner et al., 2012). På sida av grima er det festa ein boks, som inneheld batteri og sørgjer for at alle registreringane vert lagra. Foto: Privat

Ulik kjeveaktivitet ved for eksempel fôrintak og drøvtygging (Figur 4) gjer det mogleg å måla både varigheit og den daglege etåtferda til ei ku (Zehner et al., 2012). Ein rytmisk kjeveaktivitet indikerer drøvtygging, medan fråvær av kjeveaktivitet skuldast at kua kviler, eller bevegar seg rundt i fjøset (Ungar & Rutter, 2006).



Figur 4: Skilnadar i kjevefrekvens for parametrane vassinntak, drøvtygging og fôrintak over 30 sekund, måla på ei ku styrt med ei RumiWatch tyggegrima. Figuren er henta frå Zehner et al. (2012).

I NorFor (Nørgaard et al., 2011a) har kvart fôrslag ein gitt tyggetid (min/kg), som blir estimert som summen av etetid og tyggetid. Verdiane er frå ei standard ku (Nørgaard et al., 2011b) føra på ein spesifikk diett, og vil for til dømes pelletert kraftfôr ha ei gitt tyggetid på 4 minutt per kg tørrstoff, som vil reduserast dersom pelletsen vert kutta/mala. Etetida for grovfôr vil avhenga av NDF- innhald og partikkelstorleik. Drøvtyggingstida er òg basert på fôring på ein standard diett, og påverkast av NDF- innhald i fôret, partikkelstorleik og ein hardleiksfaktor, som er relatert til innhaldet av ufordøyeleg NDF (iNDF) (Nørgaard et al., 2011b). Dersom partikkelstorleiken er lågare enn 2mm, vert det antekt at drøvtyggingstida er lik null, då det er for lite til å stimulera til drøvtygging (Nørgaard et al., 2011a)

2.8 Mjølkeproduksjon

Mjølkekua bidreg med store volum mjølk til Noregs befolkning, og avhengig av mellom anna rase og kor langt ut i laktasjonen ho er, produserer ho dagleg mellom 10 til 40 kg mjølk (Sjaastad et al., 2016). Mjølka består hovudsakleg av feitt, protein og laktose. Næringsammansetnaden i mjølka vil variera gjennom laktasjonen til kua, for eksempel vil innhald av feitt og protein reduserast noko dei fyrste vekene etter kalving (Sjaastad et al., 2016) Både samansetnad og kvalitet har mykje å seia i forhold til for eksempel ystekvalitet (Hermansen et al., 2003).

Mjølkeproduksjonen påverkast òg av genetikk, fôring rundt pubertet og drektigheit og evna til å ta opp fôret, med tanke på substrata som krevst til mjølkesyntese (Sjaastad et al., 2016). Dette gjer at kua har ulikt næringsbehov alt etter kvar i laktasjonen ho er. Kor mykje og kva type næringsstoff kua treng for å produsera mjølk, vil avhenga av kor mykje næringsstoff som vert skild ut i mjølka (Hermansen et al., 2003), og det er derfor ein tett samanheng mellom kuas mjølkeproduksjon og kjemisk innhald i mjølka. I tillegg til sjølve mjølkeproduksjonen skal kua samstundes vedlikehalda haldet sitt, og spesielt lakterande kyr kan derfor ha eit auka behov. Dette gjer at kyrne er avhengige av eit stabilt fôrinntak, og eit redusert fôrinntak vil derfor påverka både mjølkeavdrått og næringsammansetnad (McDonald et al., 2011).

Glukose, aminosyrer og fettysyrer er viktige forløparar for mjølkesyntese. Hjø einmaga dyr er glukose ein av dei viktigaste forløparane for mjølkesyntese, medan drøvtyggaren manglar enzymet citrat lyase, som gjera at dei ikkje kan bruka glukose til fettysyresyntese. Drøvtyggarane brukar derfor eddiksyre frå fermentering i vom og β -hydroksysmørsyre frå vomveggen (Sjaastad et al., 2016). Glukose legg vidare grunnlaget for produksjon av laktose, som består av glukose og galaktose (McDonald et al., 2011). Laktose er ein av dei viktigaste faktorane for kor mykje mjølk som vert produsert (Hermansen et al., 2003).

2.9 Bruk av fôrtilsetjingsmiddel for å redusera metan

Som eit biprodukt frå fermentering i vom vert det produsert metan. Produksjonen av metan frå drøvtyggarar skuldast mellom anna at det ved hjelp av mikroorganismar skjer ei fermentering av plantematerialet som kjem ned i vom- og tarmkanalar (Dittmann et al., 2016). Reduksjon av metan er ikkje berre viktig i forbindelse med redusert utslepp av klimagassar, men òg fordi det er eit energitap for dyret (Johnson & Johnson, 1995). Frå metabolismen til mikrobane i vomma og produksjon av VFA vert det danna eit overskot med H^+ -ion i vomma. Overskotet av hydrogen og CO_2 vert vidare nytta som substrat i produksjonen av metan (CH_4), og skiljast ut gjennom utanding og raping (Sjaastad et al., 2016). Metanutsleppet er blant anna påverka av fôrinntak, type karbohydrat i dietten, fôringsregime, fôrprosessering og samansetnaden av vom-mikrobar i kvar enkelt ku (Johnson & Johnson, 1995).

Generelt har ein sett at auka meltegrad og fordøyeleg fôrinntak reduserer utslepp av klimagassar frå fermentering i vom. For eksempel syner Hristov et al. (2013) til at metanproduksjonen reduserast dersom ein byter ut delar av grasensilasjen med mais, eller tilfører meir belgvekstar på beitet. Andre fôrtilsetjingar som mellom anna 3 NOP, har synt seg å redusera metan med opp til 30 %, utan å påverka fôrinntak og mjølkeproduksjon negativt (Hristov et al., 2015). Dei siste åra har likevel algar som ein alternativ fôrtilsetjing for å redusera metan hjå drøvtyggarane, fått auka fokus. Makroalgar klassifiserast som proteistar og brukar klorofyll til fotosyntese, og vert ofte dela inn i grøn (chlorophyta), brun (phaeophyta) og raud (rhodophyta) (Lobban & Harrison, 1994).

Det er kjend at begge dei raude tangartane, *Asparagopsis taxiformis* og *Asparagopsis armata* inneheld halogenerte forbindelsar, mellom anna bromoform ($CHBr_3$) (Muizelaar et al., 2021). Bromoform har synt å ha ein hemmande effekt på danning av CH_4 (Goel et al., 2009), og kan på den måten fungera som eit tilsetningsstoff i fôr med mål om å redusera enterisk utslepp av metan. *Asparagopsis taxiformis* finst i tempererte og tropiske farvatn (Chualáin et al., 2004) og har blitt funne mange ulike stadar i verda (Dijoux et al., 2014). Trass den positive effekten ein ser ved at tilsetjinga av raudalgar har potensiale for å redusera utslepp av metan frå kua (Roque et al., 2019; Roque et al., 2021; Stefenoni et al., 2021), har det på den andre sida blitt observert reduksjon i fôrinntaket. Ingen av desse forsøka har sett nærare på korleis ete- og drøvtyggingsåtferda endrar seg, som eit resultat av lågare fôrinntak. Målet med denne oppgåva er derfor å sjå på kva underliggande mekanismar som kan tenkast å påverka det reduserte fôrinntaket.

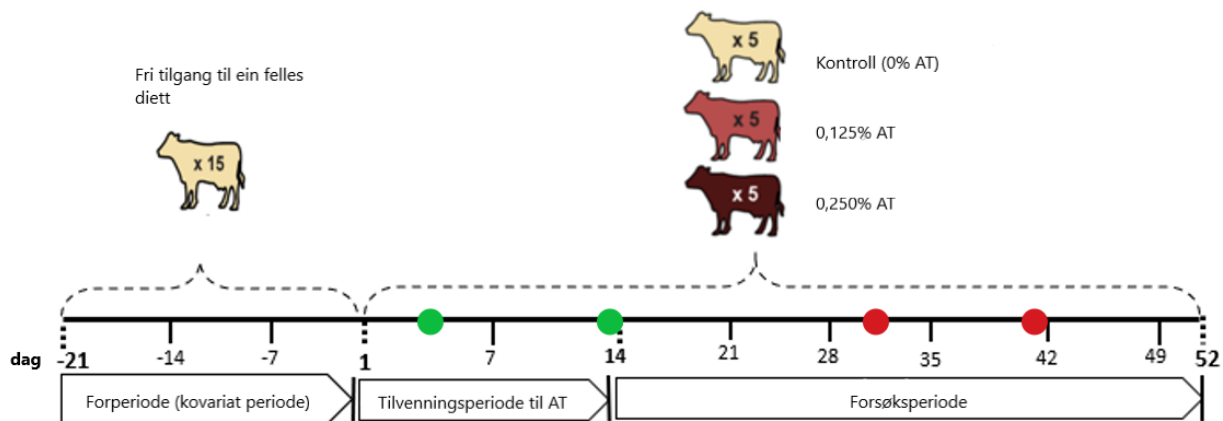
3. Material og metode

Forsøket blei utført på Stoffskifteavdelinga ved Institutt for husdyr- og akvakulturvitskap ved Noregs miljø og biovitskaplege universitet (NMBU) over ein periode på 74 dagar frå starten av mars til slutten av mai 2021. Kyrne blei oppstalla på bås, og hadde tilgang til individuelle fôr- og drikkekar. Alle dyreprosedyrane er godkjende av Mattilsynet (Mattilsynet; FOTS ID: 26318).

3.1 Forsøksdyr og eksperimental utføring

I alt deltok femten kyr i 2. til 4. laktasjon av rasen Norsk Raudt Fe, derav 9 kanylerte og 6 intakte kyr i forsøket. Kyrne var i tidleg- til midtlaktasjon, med eit snitt (\pm SD) på 676 ± 55 kg kroppsvekt, $32,1 \pm 3,7$ kg mjølk/dag og var 95 ± 27 dagar i mjølk (DIM) ved forsøksstart. Etter ein forperiode (kovariat periode) blei kyrne delt i tre grupper på fem kyr ut frå kroppsvekt, mjølkeavdrått, DIM og om dei var kanylerte (tre kanylerte kyr, og to intakte kyr i kvar gruppe). Gruppene blei vidare tilfeldig fordelt på tre fullfôrrasjonar med ulik tilsetjing av raudalgar (*Asparagopsis taxiformis*, AT); 0 % AT (Kontroll), 0,125 % AT og 0,25 % AT på organisk stoff basis (OM), heretter referert til som AT diettar. Kyrne i 0,125 % AT gruppa starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, med på grunn av veldig redusert fôrinntak (sjå Figur 8 i resultat), blei dei justert ned til 0,125 % AT. Dette gjer at 0,125 % AT gruppa i tilvenningsperioden er ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis.

Forsøket vara i 74 dagar, der dei fyrste 21 dagane fungerte som ein forperiode (kovariat periode) der alle kyrne fekk moglegheit til å tilpassa seg ein felles diett (Figur 5). Dei fyrste 14 dagane av forperioden stod kyrne i lausdriftsavdelinga på Senter for Husdyrforsøk (SHF), før dei blei flytta inn på individuelle båsar på Stoffskifteavdelinga, der dei stod til forsøket var over. Etter forperioden følgde 13 dagar med tilvenning til AT (tilvenningsperiode), og dei resterande 38 dagane til sjølv forsøket (forsøksperiode). Ete- og drøvtyggingsåtfærd blei registrert over 10 dagar (dag 4-13) i tilvenningsperioden og 11 dagar (dag 31-41) under forsøksperioden, og all statistikk for fôrinntak, og ulike ete- og drøvtyggingsåtfærd er frå desse to periodane med målingar. Mjølkeedata er frå heile forsøksperioden, altså dag 14 til 52.



Figur 5: Tidslinja for forsøkgjennomføringa som syner samanheng mellom forperiode (kovariat periode), tilvenningsperiode til *Asparagopsis taxiformis* (AT) og forsøksperioden for dei tre ulike diettane, Kontroll (0 % AT), 0,125 % AT og 0,250 % AT på organisk stoff basis (kyrne i 0,125 % AT gruppa starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis). Ete- og drøvtyggingsåtferd blei registrert over 10 dagar (dag 4-13) i tilvenningsperioden (indikert med grønne sirkclar på tidslinja) og 11 dagar (dag 31-41) under forsøksperioden (indikert med raude sirkclar på tidslinja).

3.2 Fôr, fôring og fôrprøvar

Fôret var ei fullfôrblending bestående av 65 % grovfôr (hausta 2020) og 35 % kraftfôr (Drøv Energirik Høg, Norgesfôr) på tørrstoffbasis. Fôret blei blanda med fullfôrmiiksarvogn (Siloking Duo 1814, Kverneland, Bryne, Noreg), 2-3 gongar i veka. Blandinga gjekk føre seg ved at grovfôret fyrst blei kutta kring 20 minutt, etterfølgd av ca. 10 min med blanding av grovfôret og kraftfôret. Fullfôret hadde som mål å oppnå eit tørrstoff innhald på 360 g per kg fôr. For å auka haldbarheita på fôret blei det tilsett 4 L propionsyrebasert konserveringsmiddel (GrasAAT FEED, Addcon Nordic AS, Porsgrunn, Noreg) per tonn blautt fôr. Fôret blei deretter lagra på eit kjølerom (4°C) til det var brukt opp.

Asparagopsis taxiformis som var forsøksfaktoren og blei brukt som fôrtilsetjing, blei levert av seaExpert, Portugal. Algen blei hausta vilt i løpet av våren 2020 ved Asorenes, og manuelt kontrollert og rensa for bifangst, som for eksempel andre algeartar og skjell. Algane blei deretter frosne (-20°C) og sendt til frysetørking (European Freeze Dry, Danmark) før transport til NMBU. Frysetørka *A. taxiformis* (Figur 6) blei deretter knust/mala ved å rotera den i ein sementblandar saman med tre 1 kg manualar (Figur 7) i ca. 20 minutt. Deretter blei den knuste algen lagra ved -20 grader fram til dagleg oppveging til fôring.



Figur 6: Frysetørka *A. taxiformis* før maling (til venstre) og etter maling (til høgre). Foto: Privat



Figur 7: Frysetørka *A. taxiformis* blei knust ved hjelp av tre 1 kg manualar rotert rundt i ein sementblander. Foto: Privat

Fullfôret blei dagleg vegd opp til kvar individuelle ku. Dagsrasjonen blei tildelt 3 gonger dagleg, med 40 % kl. 07.00, 30 % kl. 13.00 og 30 % kl. 19.00. Tildelinga var etter appetitt med sikte på 5 % restar dagen etter. Kvar morgon blei restane registrert og dagleg fôrmengde justert individuelt ut frå fôrinntak føregåande dag. Ved kvar fôring blei kyrne stengde frå, og bakkar med fullfôr til kvar enkelt ku blei fordelt. For gruppene 0,125 % AT og 0,25 % AT blei algane manuelt blanda i fullfôrrasjonen til kvar ku ved kvar fôring. Mengda AT var tilpassa det daglege tørrstoffinntaket for kvar ku. For å betra smaken blei melasse (50:50 blanding av melasse og vatn på vektbasis), gitt saman med AT. For å ikkje endra rasjonssamansetninga mellom gruppene blei det òg gitt 400 ml melassevatn til kontrollkyrne.

Fram til dag 36 av den eksperimentelle perioden blei melasse og raudalgane blanda til ein tjukk suppe som deretter blei blanda i fôret ved kvart fôringstidspunkt. Det hadde lett for å danna seg klumpar med raudalgar og melasse og frå og med dag 37 blei algane fyrst strødde ut over fôret, og deretter supplerte med 400 ml melassevatn og blanda på denne måten. Dette fungerte mykje

betre, samt det gjorde det vanskelegare for kyrne å sortera raudalgane ut frå fullfôret. Etter innblandinga av melasse og algar blei alle fanghekkane opna. Kyrne hadde difor med unntak av innblandinga av melasse og algar og når kara blei tømnd for restar, fri tilgang til fôret døgnet rundt. Eventuelt fôrsøl rundt fôrkara blei kosta opp fleire gonger om dagen, og lagt tilbake i fôrkrybba til den aktuelle kua.

Gjennom forsøksperioden blei det vekentleg teke ut representative fôrprøvar frå fullfôret, som blei frose ned (-20°C) til forsøket var over. Prøvane blei slått saman og sendt for analyse av tørrstoffinnhald og kjemisk samansetning (beskrive under 3.6).

3.3 Vassopptak

Kyrne hadde fri tilgang til vatn, og vassopptaket blei måla ved hjelp av elektroniske vassmålarar på drikkekara til kvar enkelt ku som blei lese av dagleg. Ved hjelp av RumiWatch tyggegrimer blei det måla kor mange minutt kyrne brukte til drikking per dag. Dette gjer at vassinntaket som blei brukt for å samanlikna dei ulike diettane derfor er måla over dei to periodane med registrering av ete- og drøvtyggingsåtfærd.

3.4 Mjølkeavdrått og mjølkeprøvar

Kyrne blei mjølka to gonger dagleg, kring 07.00 og 19.00. For å unngå potensiell kontaminering av bromoform mellom påfølgjande mjølkingar, blei alle kontrollkyrne mjølka fyrst. Deretter blei to mjølkemaskiner brukt til alle 0,125 % AT kyrne og to andre til 0,25 % AT kyrne. Individuelle mjølkemengder blei registrert ved kvart tidspunkt ved hjelp av DeLaval Mjølkemeter MM6 (DeLaval Inc., Tumba, Sverige).

For å ha eit representativt utval, blei det teke mjølkeprøvar på dag -7 og 0 i forperioden, i tillegg til dag 14, 23, 30, 37, 44 og 51 i forsøksperioden. Det blei teke to separate mjølkeprøvar frå kvar ku både morgon og kveld dei aktuelle dagane. A- prøva blei tilsett bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propaediol, Broad Spectrum Microtabs® II) og lagra kjøleg (4°C) fram til analyse, medan B- prøva blei frose ned som ein reserve, utan tilsetjing av bronopol. A-prøvane blei seinare analysert for kjemisk samansetnad som beskrive i kapittel 3.6.

3.5 Registrering av tyggetid og drikkeåtfærd

Tyggetid målt som sum av tid brukt til å eta og tygga drøv blei måla over to periodar (Tilvenningsperioden: 10 dagar frå 10.04.21 til 19.04.21 og forsøksperioden: 11 dagar frå 07.05.21 til 17.05.21). Målingane gjekk føre seg ved at alle kyrne fekk på seg kvar si tyggegrime med RumiWatch Naseband Sensor (NBS, FW-Versjon 2.29, ITIN+HOCH GmbH, Liestal,

Sveits). Ved hjelp av trykk- og rørslesensorar i eit silikonrøyr med vegetabilsk olje (Zehner et al., 2012) som ligg over nasen når kua har på seg grima, skil grima mellom ulike aktivitetar. Grimene blei nytta for å finna ut kor mykje tid kvar enkelt ku brukte til eting, drøvtygging, drikking og andre aktivitetar. I tillegg registrerer grimene mellom anna tal bolus for drøvtygging, tygg per bolus, totale etetygg (hovud oppe og nede), totale drøvtyggingstygg og drikkegulp (Zehner et al., 2012).

For å sjå at alt fungerte som det skulle blei grimene sjekka dagleg. Etter kvar periode med måling blei den oppsamla informasjonen frå grimene overført til ei datamaskin ved hjelp av ein USB kabel, og råfilene blei behandla ved hjelp av programmet RumiWatch Converter (V0.7.4.13, FW00.62). Det innsamla datamaterialet blei delt inn i drøvtyggingstid, etetid «oppe», etetid «nede», total etetid (etetid oppe + nede) drikking og andre aktivitetar, summert som daglege tidsperiodar (min/dag) og presentert som 24 timar «sann» tid (min/time). Dette for å ta omsyn til eventuelle døgnmønster som vert påverka av tilsetjinga av AT, og dei ulike fôringstidspunkta.

3.6 Kjemiske analysar

Fôrprøvane som blei fryst (-20°C), blei frysetørka og vidare mala på ei kuttermølle (Restch SM 200, Retsch GmbH, Tyskland) ved 1,0 mm sold, med unntak av prøva som skulle analyserast for stivelse, som blei mala på 0,5 mm sold. Prøvane blei sendt til LabTek ved Institutt for husdyr- og akvakulturvitskap (IHA, NMBU) og analysert for innhald av NDF, nitrogen (for estimering av råprotein, Nx6,25), stivelse, råfeitt og oske. Metodebeskriving om dei kjemiske analysane er henta frå LabTek (Hustoft, 2020). Tørrstoffet blei bestemd ved tørking på 60°C til konstant vekt, der vektdifferansen før og etter tørking utgjorde vassinnhaldet. Tørrstoffinnhaldet blei vidare justert for tap av flyktige komponentar i samsvar med det nordiske fôrvurderingssystemet (Åkerlind et al., 2011). Oska blei bestemd ved total forbrenning ved 550°C i minst 4 timar.

For å analysere innhaldet av NDF blei prøva varma opp i ei såpeløysing og tilsett varmestabil alfa-amylase for å løysa opp innhaldet i cellene, men samstundes unngå at celleveggen blei oppløyst. Celleveggen inneheld cellulose, hemicellulose og lignin, som er den fraksjonen som utgjer sjølve NDF. Stivelse blei bestemd ved å tilsetja α -amylase for å bryta ned den tredimensjonale strukturen (maltose- einingar) i stivelse til vassløyselege korte kjedar. Vidare nytta ein amyloglukosidase-enzym for å omdanna dei korte kjedene til glukose.

Glukosekonsentrasjonen blei til slutt bestemd som ein fargereaksjon med spektrofotometeret RX Daytona+ (Randox Laboratories Ltd, United Kingdom).

Råfeitt vart bestemd ved ekstraksjon (SoxtecTM 8000) ved hjelp av lett petroleum som løysemiddel, og Randall- modifikasjonen av Soxhlet metoden. Prøva vart nedsenka i kokande løysemiddel og deretter skyld med kaldt løysemiddel og vidare tørka på 103°C i 30 minutt for å fordampa løysemiddelet. Feittresten blei så bestemd gravimetrisk. For å bestemma innhald av kvantitativt nitrogen nytta ein Kjeldahl-N metoden. Ved hjelp av høg temperatur (420°C), 95% svovelsyre og ein katalysator (CuSO₄/K₂SO₄), blei aminosyrene i proteinet dekomponert. Vidare blei prøva kokt i 45 minutt, før nitrogeninnhaldet blei bestemt ved titrering med Kjeltec 8400 – automatisert destillasjonseining med scrubber. Etter avkjøling vart det tilsett RO-vatn. Denne metoden vert nytta til å bestemma den kvantitative mengda av nitrogen (NH₄⁺) i ei prøve, og det er viktig å vera klar over at metoden ikkje måla det totale innhaldet av nitrogen i organiske prøvar. Nitrogeninnhaldet blei vidare multiplisert med 6,25 for å få innhaldet av råprotein.

Mjølkeprøvane blei sendt til Tine SA i Trondheim for analyse av feitt, protein og laktose. Dette blei gjort ved hjelp av ein infraraud mjølkeanalysator (Bentley FTS/FCM, Bentley Instruments Inc., USA) (TINE, u.å.).

3.7 Berekningar og statestikk

Berekningar og statistiske analysar framsynt under resultat vart utførd i dataprogramma *Microsoft Excel* (Microsoft Office 365 Versjon 2204) og *SAS 9.4* (SAS 2020, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3.7.1 Berekningar

Tørrstoff og NDF inntak for kvar ku blei dagleg registrert, og basert på dette og total etetid (summen av eting med hovud oppe og nede) blei inntakshastigheita for tørrstoff og NDF berekna (Formel 1). Frekvensen for fritt vassinntak (FVI) blei kalkulert med omsyn på totalt registrert vassinntak (liter/dag) og tid brukt på drikking (minutt/dag) (Formel 2).

$$TSI \text{ eller } NDFI \text{ rate (g/min)} = \frac{\text{Dagleg TSI eller NDFI (g/dag)}}{\text{Tid brukt på eting (min/dag)}} \quad (1)$$

$$FVI \text{ rate (L/min)} = \frac{FVI \text{ (L/dag)}}{\text{Tid brukt på drikking (min/dag)}} \quad (2)$$

Tyggetidsindeks (TI), som tid brukt per kg inntak av tørrstoff (TSI) og NDF (NDFI), blei kalkulert i høve til Formel 3. Basert på formel 3 blei det skilt mellom TI for etetid oppe, etetid nede, total etetid og drøvtygging. Vidare blei tal ete- eller drøvtyggingstygg per kg tørrstoff konsumert kalkulert ved bruk av Formel 4.

$$TI \text{ (min/kg TSI eller NDFI)} = \frac{\text{Tid brukt på drøvtygging} \left(\frac{\text{min}}{\text{dag}}\right)}{\text{Dagleg TSI eller NDFI} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dag}}\right)} \quad (3)$$

$$\text{Tygg per kg TSI (gongar)} = \frac{\text{Ete- eller drøvtyggingstygg} \left(\frac{\text{gongar}}{\text{dag}}\right)}{\text{Dagleg TSI} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dag}}\right)} \quad (4)$$

Som beskrive i Bailey (1961) og Maekawa et al. (2002), blei den daglege spyttproduksjonen estimert som ein fast mengde spytt per minutt ved eting (0,225 L/min), drøvtygging (0,225 L/min) og kvile (0,114 L/min).

Energikorrigert mjølk (EKM) og ytinga hjå kyrne i dette forsøket er berekna etter mengde EKM (Sjaunja, 1990) (Formel 5):

$$EKM = MY * \left(0,01 + 0,122 * \frac{f_mj\ddot{o}lk}{10} + 0,077 * \frac{p_mj\ddot{o}lk}{10} + 0,053 * \frac{l_mj\ddot{o}lk}{10}\right) \quad (5)$$

der EKM = energikorrigert mjølk kg/dag), MY = mjølkeyting, kg/dag; f_mjølk = feittinnhald i mjølka, g/kg; p_mjølk = proteininnhald i mjølka, g/kg; og l_mjølk = laktoseinnhald i mjølka, g/kg.

3.7.2 Statistikk

Alle variansanalysane brukt i oppgåva blei utført med «mixed procedure» (Littell et al., 1998) i SAS 9.4 (SAS 2020, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Alle målingane vart gjentekne fleire gongar for kvar ku, og blei anteke å vera korrelerte. Denne korrelasjonen blei teke omsyn til i den statistiske modellen. Kovariansstruktur for gjentekne målingar blei valt ved å samanlikna aktuelle strukturar på bakgrunn av Akaike og Schwarz' Bayesian informasjonskriterium (Wolfinger, 1996), og First order «autoregressive» kovariansstruktur synte seg å passa best for samtlege data. Sidan periodane (tilvennings- og forsøksperioden) med registrering av ete- og drøvtyggingstid var veldig ulike, blei data for kvar periode analysert separat.

Modellen som blei nytta var:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Diett}_i + \text{Dag}_j + \text{Laktasjonsnummer}_k + (\text{Diett} \times \text{Dag})_{ij} + \text{DIM} + \text{Ku}_{ijk} + e_{ijk}$$

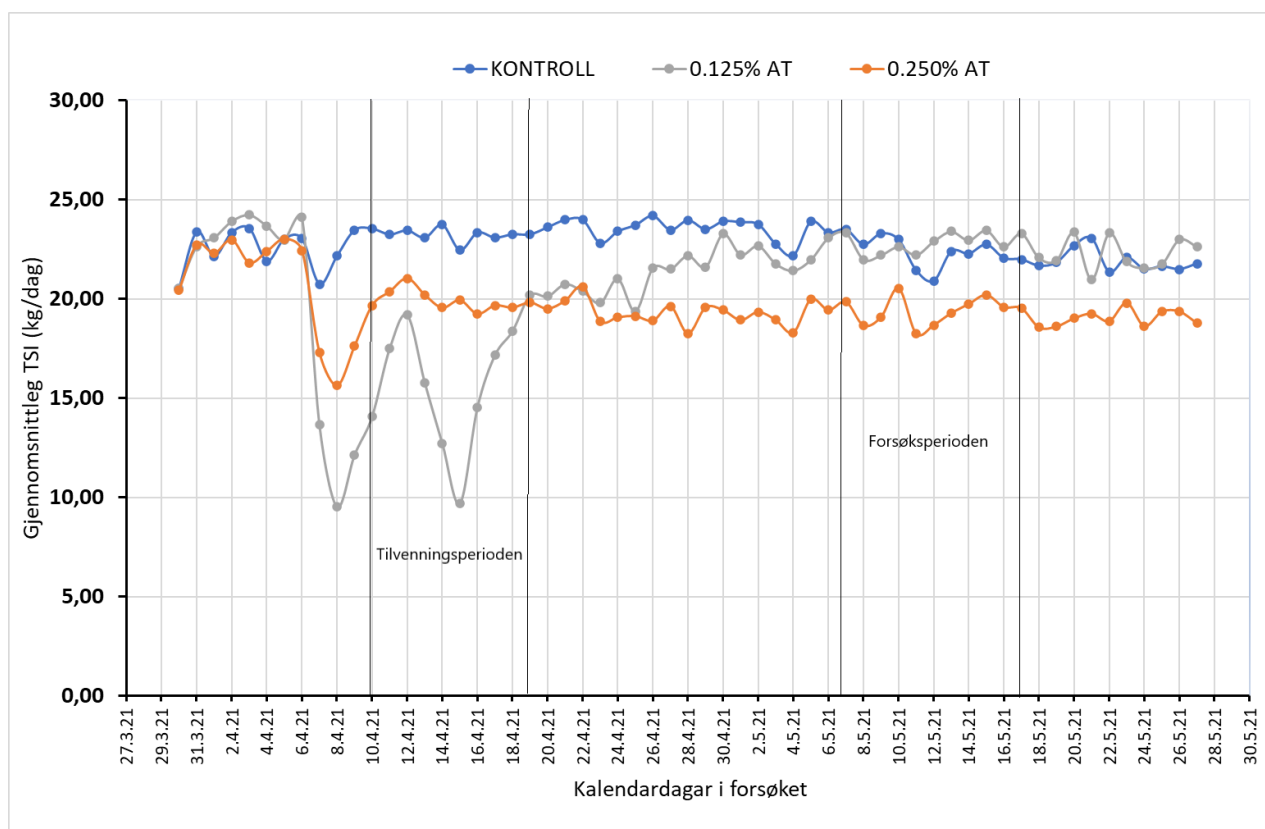
der Y_{ijk} er avhengig variabel (t.d. etetid, min/dag); μ = middelveidien; Diett_i er fast effekt av tilsetjing av AT, $i=1,2,3$ (0, 0,125, 0,25 %); Dag_j er fasteffekt av registreringsdag innan kvar periode ($j = 1, 2, 3 \dots 10$ i tilvenningsperioden; og 1, 2, 311 i forsøksperioden); $\text{Laktasjonsnummer}_k$ er fast effekt av laktasjonsnummer, $k=1, 2$ (2. laktasjon, >2 laktasjon); DIM er fast effekt av dagar i mjølk for kvar individuelle ku ved start av forsøket; $(\text{Diett} \times \text{Dag})_{ij}$, = samspelseffekt av tilsetjingsnivå av AT og registreringsdag ; Ku_{ijk} = tilfeldig effekt av ku innanfor diett og laktasjonsnummer; e_{ijk} = feilledd.

Resultata frå variansanalysene er presentert som least square means (LSmeans), og skilnadane mellom LSmeans blei vurdert som statistisk sikre når $P < 0,05$.

4. Resultat

Figur 8 syner inntak av tørrstoff gjennom heile forsøket. For Kontroll såg ein jamt over eit relativt stabilt fôrinntak. Kyrne i 0,25 % AT gruppa hadde ein dropp i TS inntak dagen det blei tilsett algar i rasjonen (06.04.21), før dei etter nokre dagar stabiliserte seg på eit tørrstoffinntak kring 18-20 kg/dag.

Kyrne i 0,125 % AT gruppa starta forsøket med 0,5 % AT på OM basis, som raskt resulterte i svært redusert fôrinntak. Etter ein dag utan algar i rasjonen (08.04.21) blei dei forsøkt gradvis tilvent 0,5 % AT, men òg med gradvis tilvenning synte dei eit veldig redusert fôrinntak. På grunnlag av dette blei algetilsetjinga justert ned til 0,125 % AT for resten av forsøket. Dette gjorde at doseringa for 0,125 % AT i tilvenningsperioden var ei blanding av 0,5 og 0,125 % AT. På bakgrunn av dette vert det fokusert mest på resultat frå forsøksperioden i resten av oppgåva.



Figur 8: Gjennomsnittleg inntak av tørrstoff (TSI) (kg/dag) for heile forsøket. Kyrne i 0,125 % AT gruppa starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis. Målingar med tyggetidsregistreringar er indikert som to ulike tidsintervall mellom dei loddrette linjene.

4.1 Fôr og vassinntak

Fullfôret inneheldt i snitt 360 g tørrstoff per kg fôr og 372 g NDF, 178 g råprotein, 135 g stivelse, 39 g råfeitt og 77 g oska per kg tørrstoff fôr. Ikkje analyserte karbohydrat og gjæringsprodukt frå ensileringa utgjer hovuddelen av dei attverande 199 gramma tørrstoff.

Gjennomsnittleg dagleg inntak av tørrstoff (TSI), NDF (NDFI) og vatn (FVI) for kvar diett i både tilvennings- og forsøksperioden er presentert i Tabell 3. Samspelet mellom diett og dag med målingar i tilvenningsperioden var signifikant ($P < 0,05$) for TSI, NDFI og FVI. Generelt synte Kontroll signifikant høgare inntak av tørrstoff, NDF og vatn enn båe forsøksgruppene. I forsøksperioden var det ikkje samspel mellom diett og dag ($P > 0,05$). Det var heller ikkje skilnad i inntak av tørrstoff og NDF mellom Kontroll og 0,125 % AT ($P > 0,05$), medan inntaket av tørrstoff og NDF var lågare for 0,25 % AT enn Kontroll ($P < 0,02$). Det var ikkje skilnad i vassinntak mellom nokon av gruppene i forsøksperioden ($P > 0,5$).

Tabell 3: Dagleg inntak av tørrstoff (TSI), nøytralløyslege fiber (NDFI), og vatn (FVI) for dei ulike fullfôrdiettane (kg) i tilvenningsperioden og forsøksperioden. Verdiar oppgjeve som Least square means (LSmeans) med standardfeil (SE).

	Diett ¹			P-verdiar		
	Kontroll	0,125%AT ²	0,250%AT	Diett	Dag	Diett*Dag
<u>Tilvenningsperioden (kg/dag)</u>						
TSI	23,7 (0,7) ^a	15,5 (0,5) ^c	20,2 (0,5) ^b	<0,001	<0,001	<0,001
NDFI	8,9 (0,3) ^a	5,7 (0,2) ^c	7,5 (0,2) ^b	<0,001	<0,001	<0,001
FVI	89,4 (5,3) ^a	57,9 (4,3) ^c	70,6 (4,1) ^b	0,003	0,005	0,001
<u>Forsøksperioden (kg/dag)</u>						
TSI	22,1 (0,6) ^a	22,3 (0,5) ^a	19,8 (0,5) ^b	0,012	0,001	0,961
NDFI	8,2 (0,2) ^a	8,3 (0,2) ^a	7,3 (0,2) ^b	0,020	0,001	0,961
FVI	75,7 (5,0)	81,9 (4,5)	69,3 (4,8)	0,213	<0,001	0,802

¹ Kontroll (0 %), 0,125 % og 0,250 % *Asparagopsis taxiformis* (AT) på organisk stoff (OM) basis

² 0,125 % AT starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av føring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis

Oppheva bokstav innan linja indikerer signifikant skilnad ved $P \leq 0,05$

4.2 Ete- og drøvtyggingsåtfærd

I Tabell 4 vert ete- og drøvtyggingsåtfærd (minutt/dag) for åtfærdene eting med hovudet oppe, eting med hovudet nede, total etetid (eting hovud oppe + eting hovud nede), drøvtygging og drikking for tilvenningsperioden og forsøksperioden presentert. Kyrne i 0,25 % AT gruppa brukte signifikant lengre tid til eting med hovud nede i båe periodar ($P < 0,02$), samanlikna med Kontroll og 0,125 % AT. For forsøksperioden var det signifikant skilnad i tid brukt til eting med hovudet nede mellom alle tre diettane, medan Kontroll og 0,125 % var like i tilvenningsperioden. Kyrne i 0,125 % AT gruppa brukte signifikant mindre tid ($P = 0,00$) til drøvtygging i tilvenningsperioden, samanlikna med Kontroll og 0,25 % AT. Det blei i tillegg

observert ein marginal skilnad i total etetid mellom Kontroll og 0,25 % (P = 0,09) i forsøksperioden.

Tabell 4: Eting hovud oppe, eting hovud nede, total etetid (eting hovud oppe + eting hovud nede), drøvtygging og drikking for dei ulike fullfôrdiettane (minutt/dag) i tilvenningsperioden og forsøksperioden. Verdiar oppgjeve som Least square means (LSmeans) med standardfeil (SE).

	Diett ¹			P-verdiar		
	Kontroll	0,125%AT ²	0,250%AT	Diett	Dag	Diett*Dag
<u>Tilvenningsperioden (min/dag)</u>						
Eting hovud oppe	200 (32,3)	139 (23,8)	123 (29,4)	0,287	0,625	0,476
Eting hovud nede	115 (24,3) ^b	160 (18,3) ^b	256 (22,1) ^a	0,013	0,285	0,786
Total etetid	315 (36,3)	301 (27,3)	377 (33,0)	0,312	0,477	0,914
Drøvtygging	470 (23,5) ^a	376 (17,8) ^b	521 (21,4) ^a	0,001	0,072	0,199
Drikking	16,0 (4,9)	12,0 (3,1)	18,0 (4,0)	0,505	0,887	0,165
<u>Forsøksperioden (min/dag)</u>						
Eting hovud oppe	139 (20,4)	138 (20,2)	122 (24,1)	0,873	0,023	0,284
Eting hovud nede	91,0 (22,8) ^c	162 (22,4) ^b	246 (26,9) ^a	0,021	0,019	0,372
Total etetid	230 (31,1)	301 (30,9)	367 (36,4)	0,092	0,054	0,442
Drøvtygging	468 (15,7)	504 (16,1)	488 (17,8)	0,329	0,008	0,266
Drikking	9,1 (4,6)	23,6 (4,5)	12,0 (5,4)	0,116	0,504	0,718

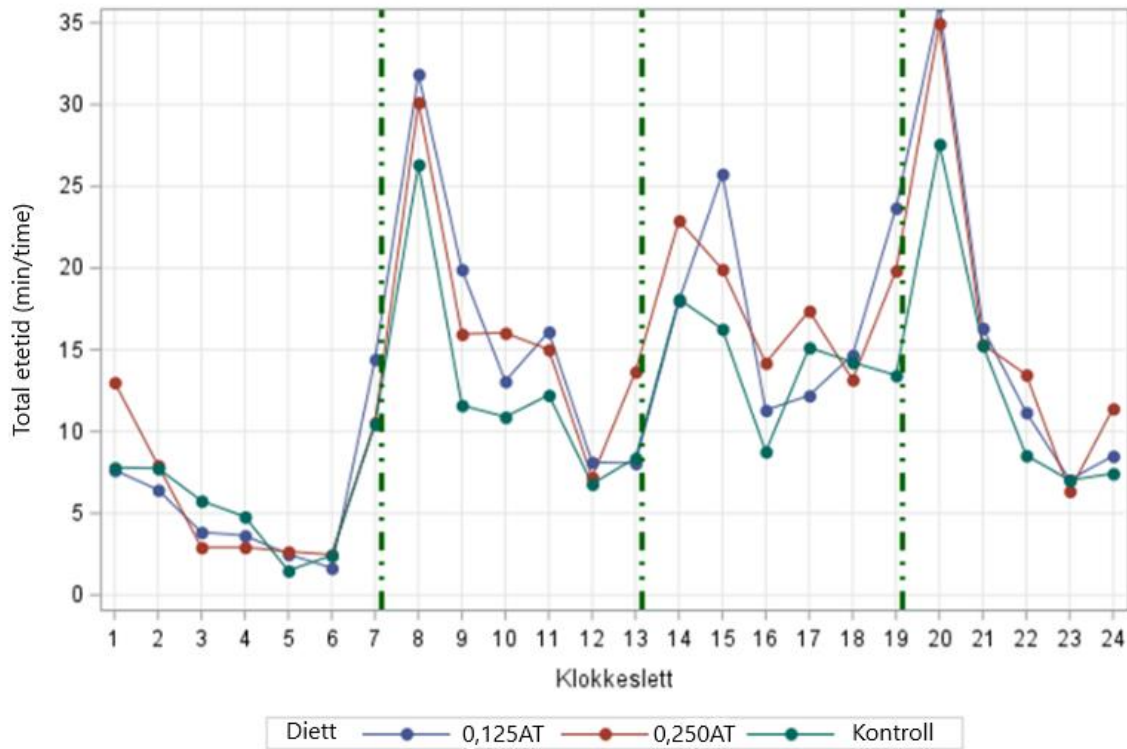
¹ Kontroll (0 %), 0,125 % og 0,250 % *Asparagopsis taxiformis* (AT) på organisk stoff basis

² 0,125 % AT starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis

Oppheva bokstav innan linja indikera signifikant skilnad ved P ≤ 0,05

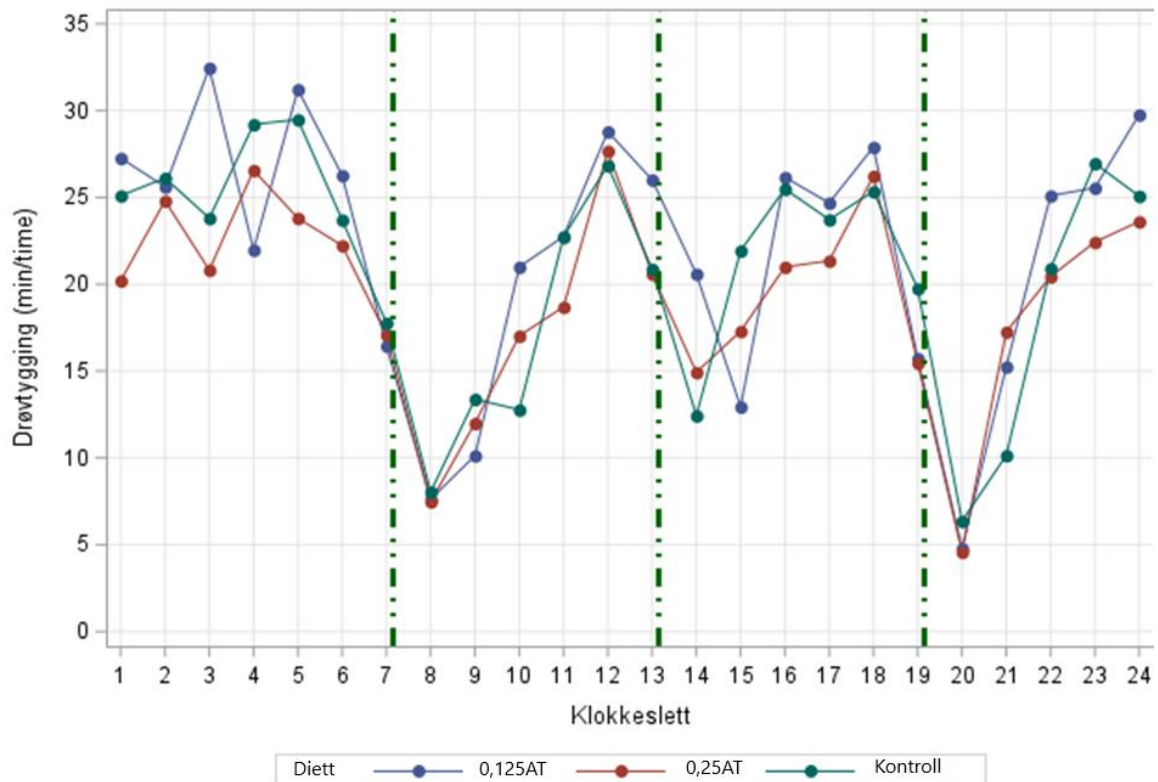
Figur 9 og Figur 10 presentera daglege variasjonar (minutt/time) for omsynsvis total etetid og drøvtyggingstid for forsøksperioden.

Forsøksperioden synte at kyrne hovudsakleg følgde same etemønsteret uavhengig av diett (Figur 9). Total etetid gjekk opp like i etterkant av eit fôringstidspunkt (07.00, 13.00 og 19.00).



Figur 9: Variasjonar i døgnet (min/time) i total etetid for NRF kyr fôra med ein fullfôrrasjon med 0 % (Kontroll), 0,125 % og 0,250 % AT (*Asparagopsis taxiformis*) for forsøksperioden. Fôringstidspunkta er markert med ei loddrett stipla linja (kl. 07.00, 13.00 og 19.00).

Drøvtygginga byrja 1-2 timar etter eit fôringstidspunkt (07.00, 13.00 og 19.00), og var hovudsakleg på det høgaste nivået (flest minutt/time) ein time før neste fôring (Figur 10). Det kunne sjå ut til at 0,125 % AT brukte mest tid (min/time) til drøvtygging, med Kontroll og 0,25 % AT like i nærleiken.



Figur 12: Variasjonar i drøvtyggingssmønster (min/time) for NRF kyr fôra med ein fullfôrrasjon med 0 % (Kontroll), 0,125 % og 0,25 % AT (*Asparagopsis taxiformis*) for forsøksperioden. Fôringstidspunkta er markert med ei loddrett stipla linja (kl. 07.00, 13.00 og 19.00).

4.3 Tyggetidsindeks og andre parameter for tyggetid

I Tabell 5 presenterast inntakshastigheit samt ulike parametrar for tyggetid i relasjon til inntak av tørrstoff og NDF. Det var signifikante samspel mellom diett og dag med målingar for tyggetidsindeks (min/kg TSI), drøvtygging (min/kg NDFI) og tygg per kg TSI i tilvenningsperioden ($P < 0,05$). Data frå tilvenningsperioden synte at 0,125 % AT brukte signifikant lengre tid til drøvtygging per kg TSI og NDFI samanlikna med Kontroll, men ikkje i høve til 0,25 % AT. Kyrne i 0,125 % AT gruppa brukte òg signifikant lengre tid i total etetid, enn både Kontroll og 0,25 % AT. Data frå forsøksperioden synte at begge AT diettane brukte signifikant lengre tid til eting med hovudet nede og drøvtygging per kg TSI og NDFI samanlikna med Kontroll. Vidare var det marginal skilnad for drøvtyggingstygg per kg TSI i forsøksperioden, der 0,25 % AT brukte fleire tygg per kg TSI samanlikna med Kontroll.

Tabell 5: Dagleg inntak av tørrstoff (TSI) og NDF (NDFI) (gram/minutt), tyggetidsindeks (min/kg TSI/NDFI), tygg per kg inntak av tørrstoff og tygg per dag for dei ulike fullfôrdiettane i tilvenningsperioden og forsøksperioden. Verdier oppgjeve som Least square means (LSmeans) med standardfeil (SE).

	Diett ¹			P-verdiar		
	Kontroll	0,125 %AT ²	0,250 %AT	Diett	Dag	Diett*Dag
Tilvenningsperioden						
Inntakshastighet (g/min)						
TS	79,1 (8,1)	56,2 (6,5)	65,0 (6,1)	0,160	0,030	0,440
NDF	29,4 (3,0)	20,9 (2,4)	24,2 (2,3)	0,160	0,030	0,440
Tyggetidsindeks (min/kg TSI);						
Etetid hovud oppe	8,0 (1,2)	8,7 (1,0)	6,6 (0,9)	0,315	0,001	0,002
Etetid hovud nede	6,3 (1,9)	12,3 (1,5)	9,7 (1,4)	0,088	0,007	0,013
Total etetid	14,1 (1,7) ^b	21,4 (1,4) ^a	16,5 (1,3) ^b	0,011	0,001	0,004
Drøvtygging	20,8 (1,6) ^b	26,5 (1,3) ^a	23,7 (1,2) ^{ab}	0,049	<0,001	0,003
Drøvtygging min/kg NDFI	56,1 (4,3) ^b	71,4 (3,4) ^a	63,8 (3,2) ^{ab}	0,049	<0,001	0,003
Tygg per kg TSI;						
Ete tygg	897,8 (158,8)	1334,2 (126,0)	1107,8 (119,6)	0,145	0,000	0,007
Drøvtyggingstygg	1327,0 (96,3)	1561,6 (76,9)	1509,2 (72,5)	0,219	<0,001	0,004
Tygg per dag;						
Totale tygg per dag	53662 (5777,6)	41978 (4574,1)	50596 (4440,1)	0,268	0,099	0,540
Forsøksperioden						
Inntakshastighet (g/min)						
TS	100,0 (10,8)	77,2 (9,8)	65,0 (10,5)	0,140	0,030	0,680
NDF	37,2 (3,6)	28,7 (3,6)	24,1 (3,9)	0,140	0,030	0,680
Tyggetidsindeks (min/kg TSI);						
Etetid hovud oppe	7,0 (1,3)	5,7 (1,12)	5,3 (1,3)	0,642	0,012	0,533
Etetid hovud nede	4,3 (1,1) ^c	7,9 (1,0) ^b	11,9 (1,1) ^a	0,004	0,001	0,061
Total etetid	11,3 (2,0)	13,6 (1,8)	17,2 (1,9)	0,164	0,003	0,336
Drøvtygging	21,6 (0,5) ^b	23,0 (0,5) ^a	24,1 (0,5) ^a	0,010	0,001	0,760
Drøvtygging min/kg NDFI	58,2 (1,4) ^b	62,0 (1,3) ^a	64,8 (1,3) ^a	0,010	0,001	0,760
Tygg per kg TSI;						
Ete tygg	676,3 (187,7)	844,7 (165,7)	1143,0 (183,9)	0,265	0,008	0,302
Drøvtyggingstygg	1287,7 (41,1)	1393,3 (37,8)	1440,8 (38,9)	0,055	0,001	0,781
Tygg per dag;						
Totale tygg per dag	43392 (4849,8)	50730 (4288,7)	50274 (4743,4)	0,514	0,010	0,759

¹ Kontroll (0 %), 0,125 % og 0,250 % *Asparagopsis taxiformis* (AT) på organisk stoff basis

² 0,125 % AT starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis

Oppheva bokstav innan linja indikerer signifikant skilnad ved $P \leq 0,05$

4.4 Spyttproduksjon

Tabell 6 syner ulike parameter for spyttvolum (liter/dag) og spyttproduksjon per gram inntak av tørrstoff (TSI). For tilvenningsperioden skilde 0,125 % AT seg ut med signifikant høgare spyttproduksjon frå eting og drøvtygging per gram TSI, samanlikna med Kontroll og 0,125 % AT. På same tid produserte 0,125 % AT minst spytt i forbindelse med drøvtygging ($P = 0,001$) samanlikna med Kontroll og 0,25 % AT. Data frå forsøksperioden synte at 0,25 % AT hadde den høgaste ($P = 0,010$) spyttproduksjonen (mL/ gram TSI), og det var ikkje signifikante skilnadar mellom Kontroll og 0,125 % AT.

Tabell 6: Estimert spyttproduksjon (milliliter per gram tørrstoffinntak, TSI) og spyttvolum (liter/dag) for dei ulike fullfôrdiettane i tilvenningsperioden og forsøksperioden. Verdiar oppgjeve som Least square means (LSmeans) med standardfeil (SE).

	Diett ¹			P-verdiar		
	Kontroll	0,125%AT ²	0,250%AT	Diett	Dag	Diett*Diag
<u>Tilvenningsperioden</u>						
Spyttvolum frå;						
Eting, L/dag	67,8 (9,7)	67,2 (7,0)	80,0 (8,4)	0,563	0,484	0,913
Drøvtygging, L/dag	105,1 (5,4) ^a	86,9 (4,0) ^b	114,4 (4,7) ^a	0,001	0,080	0,220
Rest, L/dag	69,5 (6,9)	76,6 (5,0)	62,6 (5,9)	0,250	<0,001	0,540
Totalt spyttvolum, L/dag	243,6 (9,7)	233,8 (7,1)	256,2 (8,3)	0,195	0,640	0,680
Spyttproduksjon per g TSI;						
Eting, mL	3,2 (0,4) ^b	4,8 (0,3) ^a	3,7 (0,3) ^b	0,020	<0,001	<0,001
Total spyttproduksjon, mL	10,6 (0,6) ^c	16,1 (0,5) ^a	12,5 (0,5) ^b	<0,001	<0,001	<0,001
<u>Forsøksperioden</u>						
Spyttvolum frå;						
Eting, L/dag	57,3 (9,7)	68,5 (8,6)	74,7 (10,7)	0,531	0,039	0,392
Drøvtygging, L/dag	105,3 (3,7)	114,9 (3,4)	109,0 (4,0)	0,180	0,004	0,140
Rest, L/dag	74,2 (5,3)	65,3 (4,7)	69,2 (5,8)	0,470	0,320	0,320
Totalt spyttvolum, L/dag	238,3 (5,8)	250,4 (5,3)	252,7 (6,3)	0,280	0,020	0,980
Spyttproduksjon per g TSI;						
Eting, mL	2,6 (0,5)	3,1 (0,4)	3,9 (0,4)	0,170	<0,001	0,210
Total spyttproduksjon, mL	10,9 (0,4) ^b	11,3 (0,3) ^b	13,0 (0,3) ^a	0,010	<0,001	0,960

¹ Kontroll (0 %), 0,125 % og 0,250 % *Asparagopsis taxiformis* (AT) på organisk stoff basis

² 0,125 % AT starta tilvenningsperioden med 0,5 % AT på OM basis, og denne perioden er derfor ei blanding av fôring med 0,5 og 0,125 % AT på OM basis

Oppheva bokstav innan linja indikerer signifikant skilnad ved $P \leq 0,05$

4.5 Mjølkk

I Tabell 5 vert gjennomsnittlege mjølkemengde og næringsinnhald i mjølka, samt mjølkesamansetnad for dei tre ulike algegruppene presentert. Det vart observert ein effekt ($P < 0,05$) av ulik tilsetjing av raudalgar på både mjølkeavdrått og energikorrigert mjølk (EKM), samt innhald og konsentrasjon av feitt, protein og laktose. Mjølkeavdrått og EKM var signifikant ($P < 0,001$) lågare for 0,125 % AT og 0,25 % AT, samanlikna med Kontroll. Algegruppene (0,125 % AT og 0,25 % AT) hadde signifikant lågare konsentrasjon av feitt og protein, men høgare konsentrasjon av laktose, samanlikna med Kontroll.

Tabell 5: Gjennomsnittleg mjølkemengde og mjølkesamansetnad hjå NRF kyr i tidleg til midt laktasjon, for dei ulike fullfördiettane gjennom heile forsøksperioden. Verdier oppgjeve som Least square means (LSmeans) med standardfeil (SE).

	Diett ¹			SE	P-verdiar		
	Kontroll	0.125%AT	0.250 %AT		Diett	Dag	Diett*Dag
Mengde, kg/dag							
Mjølkeavdrått	31,7 ^a	29,2 ^b	28,4 ^b	0,32	<0,001	0,008	0,316
EKM²	34,4 ^a	30,0 ^b	30,5 ^b	0,30	<0,001	0,005	0,230
Feitt	1,45 ^a	1,21 ^c	1,27 ^b	0,02	0,002	0,014	0,429
Protein	1,16 ^a	1,02 ^b	0,99 ^c	0,01	<0,001	0,007	0,281
Laktose	1,46 ^a	1,38 ^b	1,33 ^c	0,02	0,002	0,010	0,379
Samansetnad, %							
Feitt	4,65 ^a	4,15 ^b	4,18 ^b	0,11	0,018	0,522	0,977
Protein	3,65 ^a	3,51 ^b	3,49 ^b	0,03	0,010	0,099	0,934
Laktose	4,60 ^b	4,73 ^a	4,69 ^a	0,03	0,021	0,112	0,084

¹ Kontroll (0 %), 0,125 % og 0,250 % *Asparagopsis taxiformis* (AT) på organisk stoff basis

² EKM= energi korrigert mjølk i henhold til Sjaunja (1990).

Oppheva bokstav innan linje indikerer signifikant skilnad ved $P \leq 0,05$

5. Diskusjon

Denne oppgåva hadde som mål å sjå kva effekt tilsetjinga av *Asparagopsis taxiformis* har på fôrinntak og ulike variablar innan ete- og drøvtyggingstid, samt påverknad på mjølkeproduksjonen hjå NRF i tidleg- til midtlaktasjon.

Kyrne i 0,125 % AT gruppa starta forsøket med 0,5 % AT, men på grunn av sterkt redusert fôrinntak, sjølv etter eit nytt forsøk med ei meir gradvis tilvenning opp til 0,5 % AT, blei algetilsetjinga justert ned til 0,125 % for resten av forsøket. Det var opphavelig tenkt å samanlikna to periodar med registreringar av ete- og drøvtyggingstid, men på grunn av denne endringa blei periodane delt opp i ein tilvenningsperiode og ein forsøksperiode. Frå tilvenningsperioden såg ein at det var samspel mellom diett og dagar, som truleg skuldast at kyrne fekk ein miks av 0,5 og 0,125 % AT i denne perioden. Dette blei bekrefte i ein statistisk test der 0,125 % AT blei fjerna frå resultatet og ein berre samanlikna 0,25 % AT og Kontroll. Då forsvann det signifikante sampelet av diett x dag, og dei andre p-verdiane justerte seg noko, men var likevel signifikante for dei same variablane. For å syna kor stor effekt ulik tilsetjing av algar har på fôrinntaket og ulike ete- og drøvtyggingvariablar, blei det likevel vald å framstilla resultat frå 0,125 % AT i tilvenningsperioden, til tross for at denne perioden var ein blanding av 0,125 og 0,5 % AT. Ein konsekvens av dette vil likevel vera å fokusera mest på resultatata frå forsøksperioden, og ikkje leggja for stor vekt på samanlikningar mellom periodane. Tilvenningsperioden vert fyrst vert kort diskutert, før resultatata frå forsøksperioden vert meir inngåande diskutert. Det er òg forsøksperioden som ligg til grunn for konklusjonen frå denne oppgåva. Vedlagt ligg eit godkjend abstrakt til ISEP 2022 konferansen, som framstille resultat frå forsøksperioden (Vedlegg 1).

5.1 Tilvenningsperioden

Resultat frå tilvenningsperioden gjev eit godt bilete på kva effekt ulike tilsetjingsnivå har på fôrinntaket. Det var ein tydeleg positiv effekt på fôrinntaket ved å gå frå 0,5 og ned til 0,125 % AT (Figur 8), men kyrne trengde likevel nokre dagar etter algejusteringa på å komma seg oppatt på eit stabilt fôrinntak samanlikna med Kontroll. Resultata synte ikkje overraskande at 0,125 % AT, som då var ein blanding av 0,5 og 0,125 % AT, hadde eit svært redusert inntak av tørrstoff, NDF og vatn samanlikna med Kontroll og 0,25 % AT. Dette førte til signifikant lågare drøvtyggingstid (min/dag) og spyttvolum frå drøvtygging (L/dag) samanlikna med Kontroll og 0,25 % AT. Det er ein nær samanheng mellom inntak av TS og kor mykje drøvtygging kyrne utfører (Nørgaard, 2003a). Det gjev derfor god meining at 0,125 % AT med eit redusert

fôrinntak drøvtygde mindre enn Kontroll, som dermed gav eit lågare spyttvolum frå drøvtygginga. På den andre sida blei det observert auka drøvtygging (min/kg TSI og NDFI) for både 0,125 og 0,25 % AT samanlikna med Kontroll. Dette syner at sjølv om 0,125 % AT brukte ein mindre andel av døgnet på drøvtygging (min/dag) enn Kontroll, brukte dei samstundes betydeleg lengre tid per kg tørrstoff dei åt. Sett i samheng med 0,25 % AT, som brukte signifikant lengre tid til å eta med hovudet nede (min/dag) og drøvtygging (min/dag) enn 0,125 % AT og Kontroll, indikerer dette at kyrne ikkje var heilt fortrulege med smaken av raudalgane, og at dei brukte meir tid til å leita etter fôrkomponentar som ikkje inneheldt algar. Kyrne i 0,125 % AT gruppa synte òg auka total etetid (min/kg TSI) og spyttproduksjon (mL/g TSI) samanlikna med både Kontroll og 0,25 % AT. Sidan auka tygging stimulerer til spyttproduksjon (Maekawa et al., 2002), og kyrne drøvtygde meir per kg TS stemmer dette godt. Det er likevel verdt å merka seg at alle parametrane for spyttproduksjon i denne oppgåva er berekna, og ein kan derfor ikkje med tryggleik sei at dei faktisk produserte denne mengda.

Inntak av tørrstoff er særskilt viktig ved at det bidreg med næringsstoff som kua vidare skal bruka til vedlikehald og produksjon (NRC, 2001). Predikering av fôrinntak er vanskeleg, der fleire faktorar ved dyret, fôret og miljøet spelar inn (Kristensen & Ingvarsen, 2003). I følgje McDonald et al. (2011) er ein tommelfingerregel for predikering av fôrinntak at mjølkekyr skal ha eit tørrstoffinntak på 28-32 gram/ kg levandevekt. I dette forsøket vog kyrne i snitt 676 kg, som betyr at dei burde hatt eit tørrstoff inntak på minimum 18,9 kg TS. Dette kan tyda på at kyrne i 0,125 % AT gruppa kanskje ikkje fekk dekkja sitt næringsbehov i tilvenningsperioden. Tidlegare funn frå mellom anna Rinne et al. (2002) synte at kyrne stoppa å eta, før kapasiteten til vomma var full. Dette underbyggjer at det er fleire faktorar som spelar inn på fôrinntaket, det vera seg smaken på fôret eller andre fysiske og metabolske prosessar, for eksempel knytt til fermenteringa i vomma. Sidan der er så mange ulike faktorar som spelar inn på kor mykje ei ku et (Kristensen & Ingvarsen, 2003), er det vanskeleg å sei om kyrne i 0,125 % AT gruppa stoppa å eta før kapasiteten til vomma var full og at dei åt for lite til å dekkja næringsbehovet sitt. Uansett, samanlikna med Kontroll var det ein kraftig reduksjon i fôrinntaket, samt det blei observert sterk motvilje mot å både eta og drikkja når 0,5 % AT blei nytta. På det grunnlaget blei det vurdert som uforsvarleg å fortsetja med 0,5 % AT. Dette forsøket synte med andre ord at ei tilsetjing av 0,5 % AT på OM basis verka til å vera for høgt, jamfør redusert fôrinntak.

5.2 Forsøksperioden

5.2.1 Fôr- og vassinntak

Resultat frå dette forsøket tyder på at den høgaste tilsetjinga av raudalgen *A. taxiformis* (0,25 % AT på OM basis) reduserer fôrinntaket. Muizelaar et al. (2021) rapporterte òg om sterk aversjon mot fôret når det blei tilsett raudalgar. Redusert fôrinntak var òg tilfelle hjå Roque et al. (2019) og Stefanoni et al. (2021) som begge rapporterte om signifikant lågare fôrinntak på kyrne som fekk den høgaste tilsetjinga av algar (*Asparagopsis spp.*). Eksempelvis rapporterte Roque et al. (2019) ein reduksjon i fôrinntaket på 11 % og 38 % ved omsynsvis ei tilsetjing av 0,5 % og 1,0 % *Asparagopsis armata* på OM basis. Stefanoni et al. (2021) synte derimot ein noko lågare reduksjon, med 3 % og 7 % reduksjon i fôrinntaket ved ei algetilsetjing på omsynsvis 0,25 % og 0,5 % *A. taxiformis* på TS basis. Eit forsøk med kjøttfekryssingar av rasane Angus og Hereford fôra med 0,25 % eller 0,5 % *A. taxiformis* på OM basis over ein 21 vekers periode, synte at det ikkje var noko betydeleg skilnad i tørrstoffinntaket mellom 0,25 % AT og kontroll, medan ei tilsetjing av 0,5 % AT gav ein reduksjon i fôrinntaket samanlikna med kontrollen (Roque et al., 2021). Dette indikerer at ei aukande tilsetjing av raudalgar reduserer fôrinntaket til storfe, uavhengig av om det er kjøttfe eller mjølkekyr. På den andre sida observerte Kinley et al. (2020) ingen negativ effekt på TS- inntaket hjå Brangus kjøttfe med 0,05 %, 0,10 % og 0,20 % tilsetjing av *A. taxiformis* på OM basis. Med andre ord kan det tyda på at det er mogleg å tilsetja raudalgar i dietten til storfe utan å redusera fôrinntaket, så lenge doseringa ikkje overskrider 0,20- 0,25 % AT på OM basis. Samstundes er det ikkje gitt at kyrne konsumerte tildelt *A. taxiformis* både i dette og i tidlegare forsøk, og at dei kan ha fått i seg eit lågare nivå av AT enn faktisk tilsett i dietten. Det kan dermed tenkast at tørrstoffinntaket kunne vore enda lågare enn det som faktisk blei observert i dette forsøket. Dette vert òg antyda av Muizelaar et al. (2021).

Det var store skilnadar i drikking (min/dag) mellom dei ulike gruppene. Eksempelvis synte RumiWatch målingane at Kontroll drakk 8,3 liter/minutt, medan 0,125 % AT berre drakk 3,5 liter/minutt. På dette grunnlaget blei kapasiteten til drikkekarar måla, og dei gav i snitt $9,25 \pm 3,5$ liter/minutt. Dette indikerer at kyrne bevisst valde ei lågare inntakshastigheit, eller at RumiWatch tyggegrimene ikkje registrerte rett aktivitet. Tidlegare validering av RumiWatch tyggegrimer har synt at klassifisering av drikkeåtfærd er utsett for ein auka førekomst av tilfeldige feil (Ruuska et al., 2016; Zehner et al., 2017). Dette er ein av årsakene til at vassinntaket òg blei registrert ved hjelp av elektroniske målarar på drikkekarar. Desse registreringane er mest vektlagde i diskusjonen. Uavhengig av diett hadde kyrne eit vassinntak

mellom 69,3 og 81,9 liter/dag. Dette samsvara relativt godt med Cardot et al. (2008) som rapporterte eit vassinntak på $83,6 \pm 17,1$ liter/dag. Variasjonar i vassinntak kan skuldast skilnadar i inntak av tørrstoff, kroppsvekt, stress, temperatur, mjølkeproduksjon eller laktasjonsnummer kua (Golher et al., 2021). Mellom anna kan Melin et al. (2005) syna til eit vassinntak på 65,3 liter/dag for kyr i fyrste laktasjon, og 93,3 liter/dag for kyr med fleire laktasjonar. På same tida blei det rapportert eit dagleg tørrstoffinntak på 19,2 kg og 24,7 kg for omsynsvis fyrste laktasjon og kyr med fleire laktasjonar (Melin et al., 2005), og det er nærliggande å anta at vassinntaket derfor ikkje berre skuldast kva laktasjon kua er i, men at det òg har ein samanheng med kor mykje kua et og yting. Kontrollgruppa hadde ein betydeleg reduksjon i vassinntaket mellom tilvennings- og forsøksperioden, noko som for eksempel kan skuldast at dei åt noko mindre i forsøksperioden.

5.2.2 Ete og drøvtyggingsåtfærd

Det er nær samanheng mellom kor mykje kyrne et, og ete- og drøvtyggingstid (Nørgaard, 2003a). Dette gjer at variasjonar i fôrintak har stor påverknad på kor lenge, og kva type ete- og drøvtyggingsaktivitet kua utfører. Resultata synte at 0,25 % AT brukte lengst tid til eting med hovudet nede i baa periodane, sjølv om dei åt mindre enn Kontroll. Dette tydar på at kyrne som fekk høgast andel raudalgar (0,25 % AT) prøvde å søka etter fôrkomponentar som ikkje inneheldt raudalgar. Ved manuell observering av kyrne etter fôring blei same tendens observert, og spesielt kyrne som fekk 0,25 % AT brukte mykje tid på å flytta rundt på fôret utan å eta det. Dette underbyggjer at kyrne som fekk 0,25 % AT ikkje var heilt fortrulege med smaken på fôret. Frå forsøksperioden såg ein at òg 0,125 % AT bruka signifikant lengre tid til eting med hovudet nede, samanlikna med Kontroll.

I forsøksperioden bruka Kontroll, 0,125 % AT og 0,25 % AT omsynsvis 230, 301 og 367 min/dag i total etetid, og 458, 504 og 488 min/dag til drøvtygging. Samla sett gjev dette total tyggetid på 698, 805 og 855 min/dag for omsynsvis Kontroll, 0,125 % AT og 0,25 % AT. Samanlikna med Hansen et al. (2021) er dette forholdsvis lågt. I deira forsøk med tidleg og seint hausta kløver brukte kyrne dagleg mellom 1013 og 1048 minutt til tygging. På same tid synte Schleisner et al. (1999) til ei etetid på 294 minutt og drøvtyggingstid på 462 minutt, medan Beauchemin og Buchanan-Smith (1989) registrerte ei total tyggetid på 344- 674 min/dag, alt etter kor høg andel NDF det var i rasjonen. Eit forsøk med 300 kyr av tre ulike rasar synte ein variasjon på 265 ± 54 minutt for eting og 441 ± 71 minutt for drøvtygging måla over ein 24 timars periode (Braun et al., 2015). Dette syner at det er relativt store variasjonar mellom ulike forsøk i tid brukt til tygging. Sjølv om ein i dette forsøket observerte at tilsetjing av *A. taxiformis*

gav ei marginalt auke i total etetid (min/dag), samanlikna med Kontroll, ligg tidsintervallane innafor normale verdiar. Det er likevel verdt å merka seg at begge algegruppene åt mindre tørrstoff enn Kontroll, men altså likevel brukte marginalt meir tid til eting.

Begge algegruppene brukte signifikant lengre tid til eting med hovudet nede og drøvtygging per kilo TSI, og drøvtygging per kg NDFI, samanlikna med Kontroll. Dette underbyggjer at ulik tilsetjing av raudalgar har ein effekt på ete- og drøvtyggingsåtfærd ved at dei brukar fleire lengre tid på å eta ein kg TS eller NDF, samanlikna med Kontroll. Dersom kyrne ikkje likar smaken av fôret er det logisk å tenkja at dei et mindre, eller brukar lengre tid på sjølve etinga ved at dei kanskje søkjer rundt å prøve å finna fôrkomponent som ikkje inneheld algar. Høgare drøvtyggingsindeks kan òg tyda på at kyrne hadde mindre fôr i vomma, og derfor ei lågare passasjehastigheit (Bosch et al., 1992; Rinne et al., 2002) enn Kontroll. Dette kan ha resultert i at kyrne hadde tida til å tyggja fôret over eit lengre tidsrom samanlikna med Kontroll, slik at tyggetid per kg TSI gjekk opp. Det blei òg observert at 0,25 % AT hadde marginalt fleire drøvtyggingstygg per kg TSI samanlikna med Kontroll. Dette skuldast truleg at 0,25 % AT drøvtygde lengre per kg TSI og NDFI, og derfor hadde fleire tygg totalt. Beauchemin (1991) fant at kyrne togg 30 000 - 50 000 tygg per dag, medan Braun et al. (2015) fant $17\,077 \pm 3646$ tygg/dag, noko som stemmer godt overeins med resultatata frå dette forsøket. Auka tyggetid kan vera fordelaktig då det aukar utskiljing av spytt, som vidare reduserer risiko for å utvikla vomacidose (Beauchemin, 2018).

For å sikra ein god vomfunksjon, reknar NorFor ei samla tyggetid (etetid + drøvtyggingstid) på minimum 32 minutt per kilo TS for store rasar, og 30 minutt per kg TS for Jersey kyr (Nielsen & Volden, 2011). Dersom ein går ut i frå at NRF kategoriserast som ein stor rase ligg alle tre diettane innanfor NorFor sine anbefalingar. Tyggetid er direkte relatert til spyttproduksjon (Beauchemin, 1991), og det gjev derfor meining at begge algegruppene som brukte marginalt meir tid til eting enn Kontroll hadde ein høgare spyttproduksjon per gram tørrstoff. Spytt fungera som ein buffer, og er viktig for å oppretthalda pH i vomma (Sjaastad et al., 2016), og den auka spyttproduksjonen samsvarar godt med Eikanger (2022), som fant ein signifikant høgare pH i vomma til kyrne som fekk 0,25 % AT på organisk stoff basis.

Kyrne som fekk 0,125 og 0,25 % AT brukte om lag same etetid i begge periodar, kring 301 min/dag for 0,125 % AT og 372 min/dag for 0,25 % AT. Kontroll på den andre sida brukte 85 minutt mindre til eting under forsøksperioden kontra tilvenningsperioden. Dette kan skuldast at det var ein reduksjon på 1,8 kg i tørrstoffinntak mellom dei to periodane, men på same tid auka 0,125 % AT kyrne tørrstoffinntaket sitt med heile 6,4 kg TS frå tilvenningsperioden til

forsøksperioden, utan å endra etetida. Dette kan skuldast at kyrne har lært seg å selektera dietten med algar, som gjer at dei likevel har same etetid, men har auka effektiviteten. På den måten får dei i seg meir fôr på same tid (altså meir tørrstoff i forsøksperioden samanlikna med tilvenningsperioden).

5.2.3 Mjølkeproduksjon og kjemisk samansetnad

Kyrne som fekk raudalgar hadde ein signifikant reduksjon i mjølkeyting og EKM samanlikna med Kontroll. Det blei òg observert reduksjon i feitt-, protein- og laktoseinnhaldet samt dagleg syntetisert mengde av feitt og protein for dei to gruppene som fekk tilsett algar, samanlikna med Kontroll. Konsentrasjonen av laktose i mjølka var derimot signifikant høgare for kyrne som fekk raudalgar. Dette tydar på at tilsetjing av *Asparagopsis Taxiformis* reduserer mjølkeproduksjonen og samansetnaden av mjølka, med unntak av laktose. Reduksjon kan skuldast at kyrne som fekk raudalgar hadde eit lågare tørrstoffinntak enn Kontroll, noko som samsvarar med Stefenoni et al. (2021). Hjøå Stefenoni et al. (2021) førte tilsetjing av *Asparagopsis Taxiformis* til redusert mjølkeyting, men imidlertid ikkje til signifikante effektar på mjølkesamansetnaden, med unntak av at laktoseinnhaldet blei redusert ved den høgaste tilsetjinga av algane (0,5% *Asparagopsis taxiformis* på TS- basis) samanlikna med Kontroll. Roque et al. (2019) observerte redusert mjølkeyting og redusert proteininnhald ved ei tilsetjing av 1 % *Asparagopsis armata* på OM basis.

5.3 Kjelder til variasjon i ete- og drøvtyggingsåtferd

Generelt viste forsøket ein del signifikante skilnadar mellom dagane med registreringar. Dette kan mellom anna forklarast med variasjonar i dagleg fôrinntak, som vidare påverka ulike ete- og drøvtyggingsvariablar. Variasjonar i dagleg fôrinntak kan skuldast ulikskapar i produksjonspotensiale, fordøyingskapasitet, kroppsvekt og kor effektive dyra er til å eta og tygga fôret (Beauchemin, 1991). Det er viktig å hugsa at desse variasjonane mellom dyr påverkar kor mykje tid kyrne brukar til drøvtygginga.

Utfôringa av algane blei endra midtvegs (12.05.21) i registreringane av ete- og drøvtyggingsåtferda i forsøksperioden, og frå Figur 8 kan det sjå ut til at begge algegruppene hadde ei antyding til auke i tørrstoffinntaket etter at utfôringa av algane vart endra. Samstundes kan det sjå ut til at òg Kontroll har eit auka tørrstoffinntak i denne perioden, til tross for at fôringa deira var den same under heile forsøket. Alle tre diettane hadde likevel eit relativt stabilt dagleg inntak av tørrstoff frå tilvenningsperioda var over og fram til forsøksslutt, som gjer at tyggetidsmålingane bør vera relativt representative. Til tross for relativt store variasjonar i ete-

og drøvtyggingstid mellom diettane såg ein at kyrne uavhengig av diett i hovudsak følgde same ete- og drøvtyggingsmønsteret gjennom døgnet. Eting og drøvtygging føregår i svingingar som er omvendt av kvarandre (Sjaastad et al., 2016), og ein kan mellom anna sjå at kyrne typisk åt mest rett etter ei fôring for deretter å skifta til drøvtygging 1-2 timar seinare. Dette gjev meining ved at kyrne synte veldig interesse for å eta rett etter eit fôringstidspunkt. Ete- og drøvtyggingstida variera gjennom døgnet, og ein såg for eksempel at kyrne hovudsakleg tygde drøv på nattetid.

Det blei ikkje gjort noko gradvis opptrapping av mengde algar i dietten, med unntak av at 0,5 % AT kyrne blei forsøkt gradvis tilvent algetilsetjinga etter å fysst ha synt veldig redusert fôrinntak. Kyrne gjekk difor frå reint fullfôr til å bli tildelte 0,25 % og 0,5 % (seinare justert til 0,125 %) AT på OM basis. Sett i ettertid kunne det med fordel ha vore ei meir gradvis tilvenning for å sjå om det hadde gjeve eit meir stabilt fôrinntak. Samstundes blei dette til dels forsøkt med 0,5 % etter at dei fyrst slutta å eta, men i det tilfellet verka det ikkje til at det hadde noko særleg betydning. På den andre sida kan den henda at det burde være gjort over ein lengre tidsperiode enn det som blei prøvd i dette tilfellet, til dømes 3-4 veker. Eit forsøk med Muizelaar et al. (2021) synt at ein reduksjon i tørrstoffinntak ikkje nødvendigvis berra skuldast smaken av alge. I deira forsøk fekk kyrne fyrst ein liten mengde fôrmiks med AT før det vanlege fôret utan algar. Likevel ville ikkje kyrne eta. Dette indikerer at andre faktorar enn smak ligg bak dette resultatet. Det vil i så fall bety at maskering av smaken med for eksempel melasse ikkje vil verka. Auka smakelegheit var ein av årsakene til at det blei tilsett melasse i fôret i dette forsøket.

5.4 Veggen vidare

I denne oppgåva har hovudfokuset vore å undersøkje effektane av ulik tilsetjing av *Asparagopsis taxiformis* på fôrinntak, ete- og drøvtyggingsåtferd og mjølkeproduksjonen. Under forsøket blei det òg måla metan, og frå Eikanger (2022) kan ein sjå at den høgaste tilsetjinga av *A. taxiformis* (0,25 % AT på OM basis) reduserte metanproduksjonen (g/dag) med 22% ($P = 0,037$). Saman med andre forsøk (Roque et al., 2019; Roque et al., 2021; Stefanoni et al., 2021) syner dette at *A. taxiformis* har relativt god effekt på reduksjon av metan. På den andre sida blei det i likskap med dette forsøket funne redusert fôrinntak og mjølkeavdrått i Roque et al. (2019) og Stefanoni et al. (2021). Ein må derfor vera klar over at til tross for den positive sida i forbindelse med reduksjon av CH_4 , så er ein avhengig av at kyrne faktisk vil eta fôret dei får tildelt, og ikkje minst produsera mjølk. Som nemnd kan det verka til at det er eit doseavhengig spørsmål. Sett i samanheng med at det mellom anna blei funne auka etetid med hovudet nede i dette forsøket, og at dette er fyrste gongen ein har sett nærare på ete- og

drøvtyggingsåttferd, bør dette forholdet utforskast meir. Mellom anna burde det truleg køyrast forsøk der ein inkluderer fleire ulike tilsetjingsnivå, slik at ein betre kan vurdere kvar grensa går for å få ein reduksjon i metan, utan at fôrintaket og mjølkeproduksjonen reduserast.

Vidare bør ein sjå på moglegheiter for å forenkla utfôringa, slik at det vert mogleg for bøndene å ta i bruk *A. taxiformis* som ei fôrtilsetjing. Ei utfordring er at frysetørka *A. taxiformis* inneheld flyktige komponent som er sensitive og i verste fall går tapt under suboptimale lagringsforhold (Stefenoni et al., 2021). Stefenoni et al. (2021) fant at konsentrasjonen av bromoform i frysetørka *A. taxiformis* blei redusert med 75 % og 84 % etter fire månadar om den oppbevarast omsynsvis i mørket eller eksponert for lys. Dette vil med andre ord skapa utfordringar dersom ein kunne tenka seg å blanda *A. taxiformis* med kraftfôringrediensar og fôra det i form av pellets. På den andre sida fant Magnusson et al. (2020) at *A. taxiformis* nedsenka i olje ikkje førte til betydelege tap av bromoform, og dette kan på sikt vera eit alternativ til frysetørking.

Uavhengig av kva konservering som eignar seg best, må smak og faktorar som kan bidra til eit auka fôrintak hjå kyrne vurderast. Vidare kunne det ha vore interessant å køyra forsøket over ein enda lengre tidsperiode, for å sjå om kyrne kan tilpassa seg fôret og mjølkeproduksjonen. I tillegg er det naudsynt å sjå nærare på korleis *A. taxiformis* påverka ungdyr, kyr i sein laktasjon og sintid.

6. Konklusjon

Sjølv med så små tildelingar av *A. taxiformis* som i dette forsøket såg ein redusert fôrinntak som vidare blei reflektert i endra ete- og drøvtyggingsåtfærd. Til tross for at 0,25 % AT kyrne hadde eit lågare inntak av TS bruka dei lengre tid til eting med hovudet nede (min/dag), og hadde ein høgare tyggetidsindeks (min per kg TSI) samanlikna med Kontroll. Lengre etetid med hovudet nede og auka tyggetidsindeks var òg tilfelle for 0,125 % AT, sjølv om fôrinntaket ikkje var forskjellig frå Kontroll. Felles for begge algegruppene var at dei gav redusert mjølkemengde med redusert konsentrasjon av feitt og protein.

Resultata frå dette forsøket sett i samanheng med tidlegare utførde forsøk, kan derfor indikera at *A. taxiformis* har ein doseavhengig effekt. Dersom ein i framtida skal bruka *A. taxiformis* som eit fôrtilsetjingsmiddel for å redusera metan, bør ein derfor sjå på kva som kan gjerast for å betra smaken slik at ein sikrar stabilt fôropptak og mjølkeyting.

7. Litteraturlista

- Bailey, C. B. (1961). Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 3. The rate of secretion of mixed saliva in the cow during eating, with an estimate of the magnitude of the total daily secretion of mixed saliva. *British Journal of Nutrition*, 15 (3): 443-451. doi: 10.1079/BJN19610053.
- Bailey, C. B. & Balch, C. C. (1961). Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. *British Journal of Nutrition*, 15 (3): 383-402. doi: 10.1079/BJN19610048.
- Balch, C. C. (1971). Proposal to use time spent chewing as an index of the extent to which diets for ruminants possess the physical property of fibrousness characteristic of roughages. *British Journal of Nutrition*, 26 (3): 383-392. doi: 10.1079/BJN19710045.
- Beauchemin, K. A. & Buchanan-Smith, J. G. (1989). Effects of Dietary Neutral Detergent Fiber Concentration and Supplementary Long Hay on Chewing Activities and Milk Production of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 72 (9): 2288-2300. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79360-7.
- Beauchemin, K. A., Zelin, S., Genner, D. & Buchanan-Smith, J. G. (1989). An Automatic System for Quantification of Eating and Ruminating Activities of Dairy Cattle Housed in Stalls. *Journal of Dairy Science*, 72 (10): 2746-2759. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79418-2.
- Beauchemin, K. A. (1991). Ingestion and Mastication of Feed by Dairy Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 7 (2): 439-463. doi: 10.1016/S0749-0720(15)30794-5.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'mara, F. & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48 (2): 21-27. doi: 10.1071/EA07199.
- Beauchemin, K. A. (2018). Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101 (6): 4762-4784. doi: 10.3168/jds.2017-13706.
- Bosch, M. W., Lammers-Wienhoven, S. C. W., Bangma, G. A., Boer, H. & van Adrichem, P. W. M. (1992). Influence of stage of maturity of grass silages on digestion processes in dairy cows. 2. Rumen contents, passage rates, distribution of rumen and faecal particles and mastication activity. *Livestock Production Science*, 32 (3): 265-281. doi: 10.1016/S0301-6226(12)80006-6.

- Braun, U., Zürcher, S. & Hässig, M. (2015). Evaluation of eating and rumination behaviour in 300 cows of three different breeds using a noseband pressure sensor. *BMC Veterinary Research*, 11 (1): 231. doi: 10.1186/s12917-015-0549-8.
- Buxton, D. R. & Fales, S. L. (1994). Plant Environment and Quality. I: Fahey, G. C. (red.) *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, s. 155-199.
- Cardot, V., Le Roux, Y. & Jurjanz, S. (2008). Drinking behavior of lactating dairy cows and prediction of their water intake. *Journal of Dairy Science*, 91 (6): 2257-2264. doi: 10.3168/jds.2007-0204.
- Chualáin, F. N., Maggs, C. A., Saunders, G. W. & Guiry, M. D. (2004). The invasive genus *Asparagopsis* (Bonnemaisoniaceae, Rhodophyta): molecular systematics, morphology, and ecophysiology of falkenbergia isolates 1. *Journal of Phycology*, 40 (6): 1112-1126. doi: 10.1111/j.1529-8817.2004.03135.x.
- De Boever, J. L., De Smet, A., De Brabander, D. L. & Boucqué, C. V. (1993). Evaluation of physical structure. 1. Grass silage. *Journal of Dairy Science*, 76 (1): 140-153. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77333-6.
- Dijoux, L., Viard, F. & Payri, C. (2014). The More We Search, the More We Find: Discovery of a New Lineage and a New Species Complex in the Genus *Asparagopsis*. *PloS one*, 9 (7). doi: 10.1371/journal.pone.0103826.
- Dittmann, M. T., Hammond, K. J., Kirton, P., Humphries, D. J., Crompton, L. A., Ortmann, S., Misselbrook, T. H., Südekum, K.-H., Schwarm, A., Kreuzer, M., et al. (2016). Influence of ruminal methane on digesta retention and digestive physiology in non-lactating dairy cattle. *British Journal of Nutrition*, 116 (5): 763-773. doi: 10.1017/S0007114516002701.
- Eikanger, K. S. (2022). *Effects of Asparagopsis taxiformis on enteric methane emission, rumen fermentation and lactational performance of (Norwegian Red) dairy cows*: Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- Forbes, J. M. (2000). Physiological and Metabolic Aspects of Feed Intake Control. I: D'Mello, J. P. F. (red.) *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, s. 319-333. Wallingford: CABI Publishing.
- Garmo, T., Randby, A., Eknaes, M., Prestløkken, E. & Nørgaard, P. (2008). Effect of grass silage chop length on chewing activity and digestibility. *Grassland Science in Europe*, 13: 810-812.
- Goel, G., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2009). Inhibition of methanogens by bromochloromethane: Effects on microbial communities and rumen fermentation

- using batch and continuous fermentations. *British Journal of Nutrition*, 101 (10): 1484-1492. doi: 10.1017/S0007114508076198.
- Golher, D. M., Patel, B. H. M., Bhoite, S. H., Syed, M. I., Panchbhai, G. J. & Thirumurugan, P. (2021). Factors influencing water intake in dairy cows: a review. *International Journal of Biometeorology*, 65 (4): 617-625. doi: 10.1007/s00484-020-02038-0.
- Grant, R. J. & Albright, J. L. (2000). Feeding Behaviour. I: D'Mello, J. P. F. (red.) *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, s. 365-382. Wallingford: CABI Publishing.
- Hansen, N. P., Kristensen, T., Johansen, M., Hellwing, A. L. F., Waldemar, P. & Weisbjerg, M. R. (2021). Shredding of grass-clover before ensiling: Effects on feed intake, digestibility, and methane production in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 282: 115124. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115124.
- Hermansen, J. E., Nielsen, J. H., Larsen, L. B. & Sejrsen, K. (2003). Mælkenes sammensætning og kvalitet. I: Strudsholm, F. & Sejrsen, K. (red.) *DJF rapport Husdyrbrug nr. 54, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 2 - Fodring og produktion*, s. 341-370. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.
- Holte, K. (2017). *Effekt av høstetidspunkt og fôringsregime på tyggetid hos melkekyr i automatiske melkesystem*: Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- Hristov, A. N., Oh, J., Lee, C., Meinen, R., Montes, F., Ott, T., Firkins, J. L., Rots, A., Dell, C., Adesogan, A., et al. (2013). *Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production – A review of technical options for non-CO2 emissions*. FAO Animal Production and Health Paper No. 177. FAO, Rome, Italy.
- Hristov, A. N., Oh, J., Giallongo, F., Frederick, T. W., Harper, M. T., Weeks, H. L., Branco, A. F., Moate, P. J., Deighton, M. H., Williams, S. R. O., et al. (2015). An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proceedings of the national academy of sciences*, 112 (34): 10663-10668. doi: 10.1073/pnas.1504124112.
- Hustoft, H. K. (2020). *LabTek - Analyser og priser*. Tilgjengeleg frå: <https://www.nmbu.no/tjenester/laboratorietjenester/labtek/booking> (lest 03.05.2022).
- Ingvartsen, K. L. (1994). Models of voluntary food intake in cattle. *Livestock Production Science*, 39 (1): 19-38. doi: 10.1016/0301-6226(94)90149-X.
- Ingvartsen, K. L. & Kristensen, V. F. (2003). Regulering av foderoptagelsen. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF rapport Husdyrbrug nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1- Næringsstofsomsætning og fodervurdering*, s. 147-210. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.

- Johnson, K. A. & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73 (8): 2483-2492. doi: 10.2527/1995.7382483x.
- Kinley, R. D., Martinez-Fernandez, G., Matthews, M. K., de Nys, R., Magnusson, M. & Tomkins, N. W. (2020). Mitigating the carbon footprint and improving productivity of ruminant livestock agriculture using a red seaweed. *Journal of Cleaner production*, 259: 120836. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120836.
- Kristensen, N. B., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. & Nørgaard, P. (2003). Mikrobiel omsætning i formaverne I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF Rapport Husdyrbrug nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 211-238. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.
- Kristensen, V. F. & Ingvarsen, K. L. (2003). Forudsigelse af foderoptagelsen hos malkekøer og ungdyr. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF rapport Husdyrbrug nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1- Næringsstofomsætning og fodervurdering* s. 511-564. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning
- Kröger, I., Humer, E., Neubauer, V., Kraft, N., Ertl, P. & Zebeli, Q. (2016). Validation of a noseband sensor system for monitoring ruminating activity in cows under different feeding regimens. *Livestock Science*, 193: 118-122. doi: 10.1016/j.livsci.2016.10.007.
- Li, X., Norman, H. C., Kinley, R. D., Laurence, M., Wilmot, M., Bender, H., de Nys, R. & Tomkins, N. (2016). *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep. *Animal Production Science*, 58 (4): 681-688. doi: 10.1071/AN15883.
- Littell, R. C., Henry, P. R. & Ammerman, C. B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science*, 76 (4): 1216-1231. doi: 10.2527/1998.7641216x.
- Lobban, C. S. & Harrison, P. J. (1994). *Seaweed ecology and physiology*: Cambridge University Press.
- Maekawa, M., Beauchemin, K. A. & Christensen, D. A. (2002). Chewing Activity, Saliva Production, and Ruminal pH of Primiparous and Multiparous Lactating Dairy Cows¹. *Journal of Dairy Science*, 85 (5): 1176-1182. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74180-5.
- Magnusson, M., Vucko, M. J., Neoh, T. L. & de Nys, R. (2020). Using oil immersion to deliver a naturally-derived, stable bromoform product from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis*. *Algal Research*, 51: 102065. doi: 10.1016/j.algal.2020.102065.

- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2011). *Animal nutrition*. 7th ed. utg. Harlow: Prentice Hall.
- Melin, M., Wiktorsson, H. & Norell, L. (2005). Analysis of Feeding and Drinking Patterns of Dairy Cows in Two Cow Traffic Situations in Automatic Milking Systems. *Journal of Dairy Science*, 88 (1): 71-85. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72664-3.
- Meyer, R. M., Bartley, E. E., Morrill, J. L. & Stewart, W. E. (1964). Salivation in Cattle. I. Feed and Animal Factors Affecting. Salivation and Its Relation to Bloat. *Journal of Dairy Science*, 47 (12): 1339-1345. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(64)88915-3.
- Miljødirektoratet. (2020). *Klimagassutslipp fra jordbruk*. miljostatus.miljodirektoratet.no. Tilgjengeleg frå: <https://miljostatus.miljodirektoratet.no/tema/klima/norske-utslipp-av-klimagasser/klimagassutslipp-fra-jordbruk/> (lest 29.03.22).
- Mo, M. (2005). *Surfôrboka*. Oslo: Landbruksforl.
- Moraes, L. E., Strathe, A. B., Fadel, J. G., Casper, D. P. & Kebreab, E. (2014). Prediction of enteric methane emissions from cattle. *Global Change Biology*, 20 (7): 2140-2148. doi: 10.1111/gcb.12471.
- Muizelaar, W., Groot, M., Duinkerken, v. G., Peters, R. & Dijkstra, J. (2021). Safety and transfer study : Transfer of bromoform present in asparagopsis taxiformis to milk and urine of lactating dairy cows. *Foods*, 10 (3): 584. doi: 10.3390/foods10030584.
- Nelson, C. J. & Moser, L. E. (1994). Plant Factors Affecting Forage Quality. I: Fahey, G. C. (red.) *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, s. 115-154.
- Nielsen, N. I. & Volden, H. (2011). Animal requirements and recommendations. I: Volden, H. (red.) *NorFor - The Nordic feed evaluation system*, s. 85-112. Nederland: Wageningen Academic Publishers.
- Norbu, N., Alvarez-Hess, P. S., Leury, B. J., Wright, M. M., Douglas, M. L., Moate, P. J., Williams, S. R. O., Marett, L. C., Garner, J. B., Wales, W. J., et al. (2021). Assessment of RumiWatch noseband sensors for the quantification of ingestive behaviors of dairy cows at grazing or fed in stalls. *Animal feed science and technology*, 280: 115076. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115076.
- NRC. (2001). *Nutrient requirements of dairy Cattle*. 7 utg. Washington, DC, USA: National Academies Press.
- Nørgaard, P. (2003a). Optagelse af foder og drøvtygging. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF rapport Husdyrbryg nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 119-146. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.

- Nørgaard, P. (2003b). Tyggetid som mål for foderets fysiske struktur. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF rapport Husdyrbrug nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 489-510. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.
- Nørgaard, P. & Hvelplund, T. (2003). Drøvtyggernes karakteristika. I: Hvelplund, T. & Nørgaard, P. (red.) *DJF rapport Husdyrbrug nr. 53, Kvægets ernæring og fysiologi, Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering*, s. 11-38. Foulum: Danmarks JordbrugsForskning.
- Nørgaard, P., Nadeau, E., Randby, Å. & Volden, H. (2011a). Chewing index system for predicting physical structure of the diet. I: Volden, H. (red.) *NorFor - The Nordic feed evaluation system*, s. 127-132. Nederland: Wageningen Academic Publishers.
- Nørgaard, P., Nadeau, E. & Randby, Å. T. (2011b). A new Nordic structure evaluation system for diets fed to dairy cows: a meta analysis. I: *Modelling nutrient digestion and utilisation in farm animals*, s. 112-120: Wageningen Academic Publishers.
- Osbourn, D. (1980). The feeding value of grass and grass products. I: Holmes, W. (red.) *Grass, its production and utilization*, s. 70-124. Blackwells, London: Blackwell Scientific Publications.
- Parisavtalen. (2016). *Report of the Conference of the Parties to the United Nations Framework Convention on Climate Change (21st Session, 2015: Paris)*. Tilgjengeleg frå: <https://unfccc.int/resource/docs/2015/cop21/eng/10.pdf> (lest 16.04.22).
- Paterson, J. A., Belyea, R. L., Bowman, J. P., Kerley, M. S. & Williams, J. E. (1994). The Impact of Forage Quality and Supplementation Regimen on Ruminant Animal Intake and Performance. I: Fahey, G. C. (red.) *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, s. 59-114.
- Plaizier, J., Krause, D., Gozho, G. & McBride, B. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal*, 176 (1): 21-31.
- Rinne, M., Huhtanen, P. & Jaakkola, S. (2002). Digestive processes of dairy cows fed silages harvested at four stages of grass maturity. *Journal of Animal Science*, 80 (7): 1986-1998. doi: 10.2527/2002.8071986x.
- Roque, B. M., Salwen, J. K., Kinley, R. & Kebreab, E. (2019). Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. *Journal of Cleaner Production*, 234: 132-138. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06.193.

- Roque, B. M., Venegas, M., Kinley, R. D., de Nys, R., Duarte, T. L., Yang, X. & Kebreab, E. (2021). Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. *PLoS One*, 16 (3). doi: 10.1371/journal.pone.0247820.
- Ruuska, S., Kajava, S., Mughal, M., Zehner, N. & Mononen, J. (2016). Validation of a pressure sensor-based system for measuring eating, rumination and drinking behaviour of dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 174: 19-23. doi: 10.1016/j.applanim.2015.11.005.
- Schleisner, C., Nørgaard, P. & Hansen, H. H. (1999). Discriminant analysis of patterns of jaw movement during rumination and eating in a cow. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*, 49 (4): 251-260. doi: 10.1080/090647099424015.
- Sjaunja, L. (1990). A Nordic proposal for an energy-corrected milk (ECM) formula. *27th Session International Committee for Recording and Productivity of Milk Animals; 2-6 July 1990, Paris, France*.
- Sjaastad, Ø. V., Hove, K. & Sand, O. (2016). *Physiology of domestic animals*. 3rd ed. utg. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- SSB. (2012). *Landbruket i Norge 2011 Jordbruk - Skogbruk - Jakt*. I: Rognstad, O. & Løveberget, A. I. (red.). Oslo: Statistiske sentralbyrå.
- Stefenoni, H. A., Räisänen, S. E., Cueva, S. F., Wasson, D. E., Lage, C. F. A., Melgar, A., Fetter, M. E., Smith, P., Hennessy, M., Vecchiarelli, B., et al. (2021). Effects of the macroalga *Asparagopsis taxiformis* and oregano leaves on methane emission, rumen fermentation, and lactational performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104 (4): 4157-4173. doi: 10.3168/jds.2020-19686.
- Thoma, V., Kobayashi, K. & Tanimoto, H. (2017). The Role of the Gustatory System in the Coordination of Feeding. *eNeuro*, 4 (6). doi: 10.1523/ENEURO.0324-17.2017.
- TINE. (u.å.). *Slik analyserer vil melka*. Tine medlem. Tilgjengeleg frå: <https://medlem.tine.no/melk/slik-analyserer-vi-melka> (lest 03.05.22).
- Ungar, E. D. & Rutter, S. M. (2006). Classifying cattle jaw movements: Comparing IGER Behaviour Recorder and acoustic techniques. *Applied Animal Behaviour Science*, 98 (1): 11-27. doi: 10.1016/j.applanim.2005.08.011.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*: Cornell University Press.
- Volden, H. (2011a). Feed calculations in NorFor. I: Volden, H. (red.) *NorFor - The Nordic Feed Evaluation System*, s. 55-58. Nederland: Wageningen Academic Publishers.

- Volden, H. (2011b). Feed fraction characteristics. I: Volden, H. (red.) *NorFor: The Nordic Feed Evaluation System*, s. 33-40. Nederland: Wageningen Academic Publishers.
- Volden, H., Nielsen, N. I., Åkerlind, M., Larsen, M., Havrevoll, Ø. & Rygh, A. J. (2011). Prediction of voluntary feed intake. I: Volden, H. (red.) *NorFor - The Nordic feed evaluation system*, s. 113-126. Nederland: Wageningen Academic Publishers.
- Wolfinger, R. D. (1996). Heterogeneous Variance: Covariance Structures for Repeated Measures. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*: 205-230. doi: 10.2307/1400366.
- Zebeli, Q., Tafaj, M., Weber, I., Dijkstra, J., Steingass, H. & Drochner, W. (2007). Effects of Varying Dietary Forage Particle Size in Two Concentrate Levels on Chewing Activity, Ruminal Mat Characteristics, and Passage in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (4): 1929-1942. doi: 10.3168/jds.2006-354.
- Zehner, N., Niederhauser, J., Nydegger, F., Grothmann, A., Keller, M., Hoch, M., Haeussermann, A. & Schick, M. (2012). *Validation of a new health monitoring system (RumiWatch) for combined automatic measurement of rumination, feed intake, water intake and locomotion in dairy cows*. Proceedings of international conference of agricultural engineering CIGR-Ageng.
- Zehner, N., Umstätter, C., Niederhauser, J. J. & Schick, M. (2017). System specification and validation of a noseband pressure sensor for measurement of ruminating and eating behavior in stable-fed cows. *Computers and Electronics in Agriculture*, 136: 31-41. doi: 10.1016/j.compag.2017.02.021.
- Åkerlind, M., Weisbjerg, M., Eriksson, T., Tøgersen, R., Udén, P., Ólafsson, B. L., Harstad, O. M. & Volden, H. (2011). Feed analyses and digestion methods. I: Volden, H. (red.) *NorFor - The Nordic feed evaluation system*, s. 41-54. Nederland: Wageningen Academic Publishers.

Vedlegg

Vedlegg 1: Abstrakt i ISEP 2022

Abstrakt godkjend for publisering på 7th EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition (ISEP 2022), September 12 – 15, 2022, Granada, Spania.

Submission Id: 195

Inclusion of a red macroalgae as novel ingredient in dairy cow diets: effects on feed intake and eating-rumination behaviour

Authors and affiliations* (required)

A. Kidane (Presenting) alemayehu.sagaye@nmbu.no

Norwegian University of Life Sciences, Aas, Norway

E. Nyløy emma.nyloy@nmbu.no

Norwegian University of Life Sciences, Aas, Norway

K.S. Eikanger katrine.somlioy.eikanger@nmbu.no

Norwegian University of Life Sciences, Aas, Norway

E. Prestløkken egil.prestlokken@nmbu.no

Norwegian University of Life Sciences, Aas, Norway

Keywords: *Asparagopsis taxiformis*, seaweed, intake, behaviour

Introduction

Animals behave differently when faced with challenges such as changes in the diet (Neave et al., 2018). As such, any non-conventional feed ingredient might elicit behavioral changes with consequences on intake, performance, and health and welfare. Inclusion of red macroalgae *Asparagopsis taxiformis* (AT) as ingredient in ruminant diets has gained increased interest due to its potential to reduce enteric methane emission. Nevertheless, some studies have demonstrated that AT in the diet may affect feed intake and performance (Roque et al., 2019, Muizelaar et al., 2021). We investigated the effects of including AT on eating rumination-behaviour, dry matter intake (DMI), and rate of intake with Norwegian red (NRF) dairy cows given ad libitum access to a total mixed ration (TMR) and fresh drinking water.

Material and Methods

Fifteen early- to mid-lactation NRF cows with mean (\pm SD) initial body weight of 681 (56.1) kg and milk yield of 36.9 (4.2) kg were used in the experiment. After feeding a common diet for 21 days, the cows were randomly allocated into one of the three dietary

treatments ($n = 5$) receiving a TMR containing 0, 0.125, and 0.25% AT on organic matter intake basis. The TMR was composed of 65% chopped grass silage and 35% concentrate feed (DM basis) containing (g/kg DM) 401, 175, 120 and 76 neutral detergent fiber (NDF), crude protein, starch and ash, respectively. The TMR was offered in three split portions (40%, 30% and 30% at 0715, 1315 and 1915 h local time, respectively). Equivalent portions of freeze-dried and crushed AT were hand-mixed with TMR in individual feed troughs. A water-molasses-mix (1:1, w/w) of 400 g/d was further mixed with the TMR to mask the taste of AT. The 0% AT group also received water-molasses mix. After 30 days on experimental diets, eating-rumination behaviour was continuously recorded for 11 days using RumiWatch Noseband Sensors (Itin+Hoch GmbH, Liestal, Switzerland). The sensor data including time allocated to eating (i.e., eating-head-up, eating-head-down), rumination, and other activities was compared using repeated measures ANOVA in SAS Proc Mixed with autoregressive covariance structure (AR(1)). Statistical significance was declared at $P \leq 0.05$ with tendencies expressed at $0.05 < P \leq 0.1$. Multiple mean comparison was made using Tukey-Kramer test.

Results and Discussion

Below, summarized data on intake and eating-rumination (Table 1) and circadian variation in eating-rumination behaviour (Figure 1) are presented. Over the recording days, DMI was lower on the 0.25% AT group compared to others. Water intake was not affected by AT inclusion. Overall, the AT groups spent more time on eating head-down position compared to 0% AT, suggestive of aversion to AT intake by the former despite our effort to mask it with water-molasses-mix. This was supported by visual assessment in the early phase of the experiment. Eating head-up was not different among the groups, but total time spent on eating was higher for 0.25% AT group relative to 0% AT. Calculated intake rates for both DM and NDF increased with increasing AT inclusion level. Rumination index (rumination time per kg NDF consumed) was not different among the groups but was comparable to values for dairy cows consuming wet/dry corn and fine chopped silage (Krause et al., 2002).

Table 1. Eating-rumination activities (mean \pm SEM)

Parameters	AT inclusion (% OM intake basis)			P-values
	0	0.125	0.25	
DMI, kg/day	22.1 (0.55) ^b	22.3 (0.50) ^b	19.8 (0.52) ^a	*
Water intake, kg/day	76.3 (5.33)	82.1 (4.89)	69.1 (5.03)	NS
<u>Time (min/day):</u>				
Eating, head-up	139 (20.4)	138 (20.1)	122 (24.1)	NS
Eating, head-down	91.0 (22.8) ^a	162 (22.4) ^b	246 (26.9) ^c	*

Sum eating (head-up+head-down)	230 (31.1)	301 (30.9)	367 (36.4)	0.09
Rumination	468 (15.7)	504 (16.1)	488 (17.9)	NS
All other activities	679 (40.6)	621 (40.8)	585 (47.2)	NS
<u>Calculated values:</u>				
DM intake rate, min/kg DMI	10.5 (1.67)	13.7 (1.30)	18.3 (1.99)	0.09
NDF intake rate, min/kg NDFI	28.1 (4.48)	36.8 (4.40)	49.3 (5.35)	0.09
Rumination index, min/kg NDFI	59.0 (1.48)	63.0 (1.52)	63.0 (1.71)	NS

NS = not significant; * = $P < 0.05$

Means in a row with different superscripts are different at $P < 0.05$

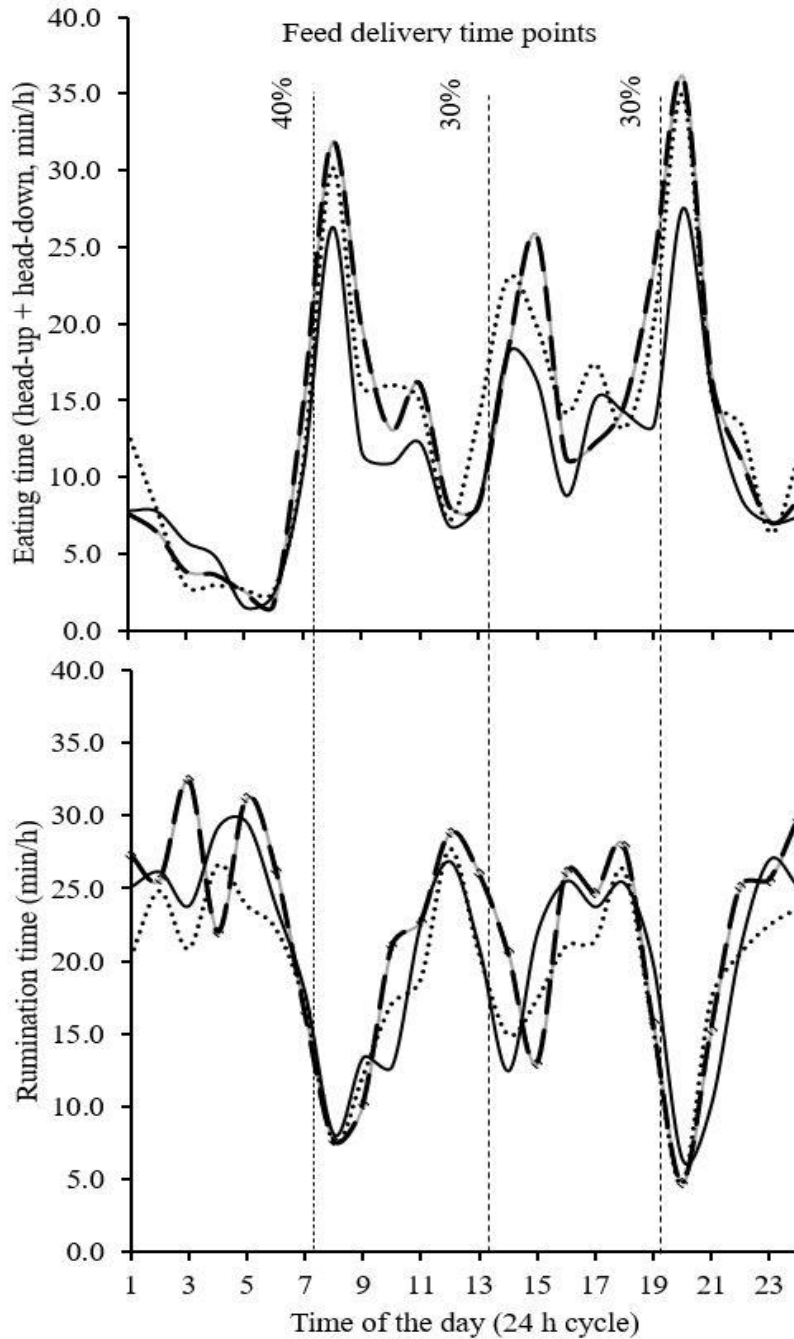


Fig. 1. Circadian fluctuation in eating-rumination behaviour (solid line = 0%AT; broken line = 0.125%AT; dotted line = 0.25%AT)

Conclusion and Implications

Inclusion of AT reduced both DMI and eating behaviour without adverse effect on water intake, and rumination time. The results suggest that water-molasses-mix used to mask the taste of AT was not adequate, or the adaptation period was too short.

This is part of the SeaCow project (RCN #: 4205000147) funded by the research council of Norway.

References

Krause KM, Combs DK, and Beauchemin, KA 2002. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *Journal of Dairy Sciences*. 85(8):1947-1957.

Muizelaar W, Groot M. van Duinkerken G, Peters R, and Dijkstra J 2021. Safety and transfer study: transfer of bromoform present in *Asparagopsis taxiformis* to milk and urine of lactating dairy cows. *Foods* 10(3):584.

Neave HW, Weary DM, and von Keyserlingk MAG. 2018. Review: individual variability in feeding behaviour of domesticated ruminants. *Animal* 12:s419-s430.

Roque BM, Salwen JK, Kinley R, and Kebreab E 2019. Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. *Journal of Cleaner Production*. 234:132-138.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway