REDUKTION AF KØERS METANUDLEDNING

Projekt Forskerspirer 2018

Naturvidenskab (NAT)

Sofie Abildtrup Rasmussen

Rosborg Gymnasium og HF

FORSKERKONTAKTER:

Jan Lassen

Peter Løvendahl

FORSKERSPIRER

TA' FORSKUD PÅ FREMTIDEN

INDHOLD

- INDLEDNING s. 3
- PROBLEMFORMULERING s. 3
- AFGRÆNSNING s. 4
- TEORI s. 5
  - METANDANNELSE s. 5
  - ANDRE MIKROORGANISMERS INDLFLYDELSE PÅ METANOGENERNE s. 6
- PROJEKTREALISERING s. 6
  - FREMGANGSMÅDE s. 6
  - OMFANG s. 7
- DISKUSSION & PERSPEKTIVERING s. 8
- KONTAKTER s. 9
- LITTERATURLISTE s. 9
- BILAG s. 10
  - BUDGET s. 10
  - TIDSRAMME s. 11

INDLEDNING

Global opvarmning er et anerkendt verdensproblem (Pickering, et al., 2015, s. 2), der truer menneskets fremtidige liv på Jorden. Menneskets udledning af drivhusgasser forøger udelukkende drivhuseffekten (Lassen, Haas, Pszczola, Soyeurt, & Wall, 2017, s. 1), og der er brug for en omfattende indsats på alle områder, hvor udledningen af drivhusgasser kan reduceres - selv de små områder, der kan synes at have mindre betydning.

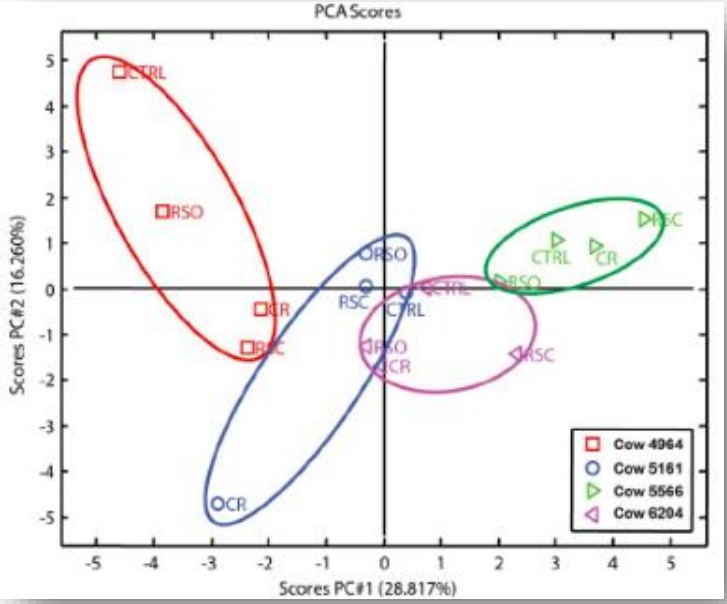
På landbrugsområdet forholder det sig således, at metanudledningen fra husdyrproduktion udgør ca. 16% af den samlede menneskeskabte metanudledning på verdensplan. (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 1) Da metan er en drivhusgas med en effekt, der er 21 gange større end kuldioxid (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 1), er det interessant at undersøge, hvorledes denne udledning kan reduceres. Langt størstedelen af metanemissionen fra husdyr kommer fra kvægbrug (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 2), og da verdens forbrug af både kød og mælkeprodukter forventes at stige i takt med den voksende verdenspopulation, er metanemissionen fra kvægproduktion et oplagt område at sætte fokus på. Kvæg er drøvtyggere med en særlig form for fordøjelsessystem, hvor føden gennemgår nedbrydningsprocesser i fire maver. I koens forreste mave, vommen, omdanner metanproducerende bakterier, kaldet metanogener, dihydrogen og kuldioxid til metan og vand. (Johannes, Lund, Hellwing, & Weisbjerg, 2012, s. 1). Metanogenerne udnytter omkring 3-7% af bruttoenergien fra foderet i denne proces (Johannes, Lund, Hellwing, & Weisbjerg, 2012, s. 1), så hvis metanemissionen reduceres, vil det ikke blot være til fordel for klimaet, men også til fordel for koen selv (og dermed landmanden), der vil kunne udnytte 3-7% ekstra energi andetsteds, f.eks. til mælkeproduktion.

Hos mennesker viser det sig, at der eksisterer en sammenhæng mellem forskellige egenskaber og sammensætningen af bakterier i tarmen. Et forskningsprojekt kaldet ”Enterotypes of the human gut microbiome” (Arumugam, et al., 2011) inddeler forsøgspersoner i grupper med korrelerende mikrobiel sammensætning i tarmen, og det er med inspiration fra dette, at mit projekt bliver til. Jeg ønsker nemlig at undersøge, hvorvidt den mikrobielle sammensætning i køers vom kan have betydning for forskellige egenskaber hos koen. Mit fokus vil være på sammenhængen mellem koens mikrobielle vomsammensætning og metanudledning for at undersøge, om der eksisterer nogle tendenser, der gør, at nogle køer med bestemte mikrober udleder mindre metan end andre.

AFGRÆNSNING

Nuværende forskning i køers metanemission fokuserer primært på optimering af dyrenes foder og foderoptagelse. (Johannes, Lund, Hellwing, & Weisbjerg, 2012) (Lund, Weisbjerg, Johannes, Hellwing, & Hvelplund, 2009) Studier betragter bla. metanogernerne i koens vom, der har stor betydning for dyrets emission af metan, da det er disse bakterier, der under anaerobe forhold producerer metanen. (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 3) Disse metanogener kan på forskellige måder hæmmes, dræbes eller udkonkurreres ved at ændre på fedtsyresammensætningen i foderet (Kristensen & Lund, 2001, s. 47-50) eller f.eks. ved at inddrage et molekyle som 3-nitrooxypropal i foderet. (Evert, et al., 2016)
Dog viser det sig, at koens genetik også har en brik med i spillet. Et forsøg foretaget af forskere fra Aarhus Universitet (Kristensen & Lund, 2001, s. 50) viser, hvordan det genetiske aftryk af metanogenerne er forskelligt, selvom køernes fodersammensætning er ens. Det tyder altså på, at en ko kan være genetisk disponeret til at udlede mere/mindre metan.

Figur 1 til højre er lånt fra rapporten "*Kvæg og klima*" (Kristensen & Lund, 2001, s. 50) og beskriver, hvordan fire køers metanemission ikke ændrer sig synderligt på trods af forskellige former for foder, men forbliver i samme område, hvilket må skyldes genetiske forskelle.



FIGUR 1: "Cluster-analyse" lånt fra rapporten " "*Kvæg og klima*" (Kristensen & Lund, 2001, s. 50)

Disse genetiske forskelle kan blot skyldes, at formen for eller mængden af metanogener er forskellig fra ko til ko. Men da metanogenerne lever i symbiose (Johannes, Lund, Hellwing, & Weisbjerg, 2012, s. 54) (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 3) med mange andre mikrober i koens vom, må disse også formodes at have medvirkende betydning for emissionen af metan. Det er i denne hypotese, at mit projekt tager afsæt. Projektet går netop ud på at undersøge hele den mikrobielle sammensætning i koens vom for at undersøge, om der eksisterer sammenhænge mellem bestemte vomsammensætninger og størrelsen på metanemissionen. Resultaterne kan åbne helt nye døre inden for forskningen, hvis det eksempelvis viser sig, at en vomsammensætning med en stor mængde af en bestemt form for protozoer (Kristensen & Hvelplund, 2004, s. 94) bevirker lavere metanudledning. I stedet for kun at fokusere direkte på metanogenerne som allerede gjort før, vil det være interessant at undersøge disse andre mikrober, og hvordan de kan påvirkes, for at emissionen af metan mindskes. Altså vil forskningen i den mikrobakterielle sammensætning i

vommen fokusere mere på helheden frem for blot metanogenerne isoleret set. Dette giver mening, da metanogenerne, som tidligere nævnt, påvirkes af og lever i symbiose med andre mikrober i vommen.

Disse overvejelser fører frem til mit valg af problemformulering.

PROBLEMFORMULERING

Med udgangspunkt i en hypotese om, at hele den mikrobielle sammensætning i en kos vom har betydning for metanemissionen, udformes problemformuleringen:

FINDES DER EN ELLER FLERE SPECIFIKKE MIKROBIELLE VOMSAMMENSÆTNINGER HOS KØER, DER MEDVIRKER TIL LAVERE METANUDLEDNING, OG HVORDAN KAN VIDEN OM DETTE BENYTTES TIL EN MERE KLIMAVENLIG KVÆGPRODUKTION?

TEORI

METANDANNELSE

I koens forreste mave, vommen, nedbrydes kulhydrat under anaerobe forhold til forskellige fedtsyrer. Dette er en fermentering og medfører dannelse af kortkædede fedtsyrer, som primært er eddikesyre, propionsyre og smørsyre. Fermenteringen af glukose til de forskellige kortkædede fedtsyrer ses i nedenstående reaktionsskemaer, der er lånt fra *"Metan tab hos malkekøer og mulighed for reduktion."* (Lund, 2000, s. 12)

- **EDDIKESYRE** $C_6H_{12}O_6 + 2\ H_2O \rightarrow 2\ CH_3COOH + 2\ CO_2 + \mathbf{4\ H_2}$
- **PROPIONSYRE** $C_6H_{12}O_6 + \mathbf{2\ H_2} \rightarrow 2\ CH_3CH_2COOH + 2\ H_2O$
- **SMØRSYRE** $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ CH_3CH_2CH_2COOH + 2\ CO_2 + \mathbf{4\ H_2}$

Der opstår et brinttryk (Weisbjerg, Lund, & Hvelplund, 2005, s. 2) i vommen, når disse fedtsyrer dannes, da produktionen af brint fra fermentering til eddikesyre og smørsyre er større end forbruget af brint ved fermenteringen til propionsyre. En speciel gruppe af bakterier, nemlig metanogenerne, forbruger brinten ved reduktion af kuldioxid og får den vej igennem energi. Denne reaktion medfører metan, som koen efterfølgende emitterer ved udånding:

$$4\ H_2 + CO_2 \rightarrow \mathbf{CH_4} + 2\ H_2O$$

Acetogene bakterier forbruger også brint i vommen ved at danne eddikesyre, men da denne reaktion ikke er lige så energirig som ovenstående, forekommer den ikke i samme grad som metandannelsen fra metanogenerne. (Lund, Weisbjerg, Johannes, Hellwing, & Hvelplund, 2009, s. 3)

Metanogenernes produktion af metan kan reduceres ved at mindske mængden af dannet brint ved fermenteringen eller ved at skabe konkurrence om brinten i vommen. (Kristensen & Lund, 2001, s. 48-51). Ved at tilsætte stivelse til koens foder, forskydes forholdet mellem de kortkædede fedtsyrer, så der dannes mere propionsyre, hvormed der forbruges mere brint, så mængden af brint samlet set mindskes. Ved tilsætning af stivelse øges foderets passagehastighed desuden, hvilket hæmmer metandannelsen, da metanogenerne er langsomtvoksende. Ved at tilsætte umættede fedtsyrer til foderet, vil der opstå konkurrence om brinten, da fedtsyrerne vil forbruge brint for at opnå mættethed.

Både tilsætning af stivelse og umættede fedtsyrer mindsker altså metanproduktionen, da det bevirker mindre brint til metanogenerne.

ANDRE MIKROORGANISMERS INDFLYDELSE PÅ METANOGENERNE

Det viser sig, at metanogener i køers vom lever i symbiose med protozoer, og at denne symbiose er medansvarlig for "op til 37% af den samlede metanproduktion." (Lund, 2000, s. 23) Dette skyldes, at metanogenerne lever tæt med protozoerne, når de ikke er i funktion. Desuden medvirker protozoerne til dannelse af smørsyre, hvilket som tidligere nævnt øger mængden af brint i vommen. Det må formodes, at metanogenerne på samme måde også lever i samspil med andre mikroorganismer i vommen, og derfor giver det mening at undersøge den samlede mikrobielle vomsammensætning frem for blot metanogenerne for sig selv.

PROJEKTREALISERING

FREMGANGSMÅDE

Når projektet skal udføres i praksis, består det af forskellige dele:

- **Udtagelse af vomprøver**

Udtagelse af vomprøver fra køerne er det første skridt i projektet. Hvis køerne har en vomfistel indopereret, udtages vomprøven direkte, ellers må der benyttes en sonde gennem halsen.

- **Måling af metan**

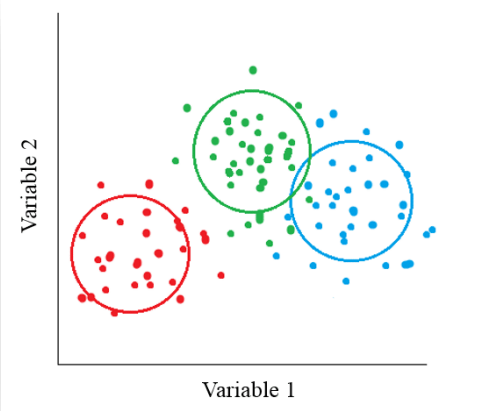
Køers metanmåling måles mest effektivt ved brug af respirationskamre, hvor forskellen mellem metankoncentrationen i boksen og i omgivelserne bruges til at beregne køernes egen udledning. Køerne er placeret i boksen i 2-3 døgn ad gangen, og mens de er derinde, fodres de med samme slags foder, så der ikke opstår en unødvendig variabel. For at sikre, at resultaterne er så repræsentative som muligt, skal køerne forud for målingerne have haft mindst 14 dage til at vænne sig til både omgivelserne og foderet, så de ikke er påvirket af faktorer som f.eks. stress ved at være i et nyt miljø.

- **Analyse af data**

Når den mikrobielle vomsammensætning hos køerne undersøges, skal sammensætningerne efterfølgende også kategoriseres, så det er lettere at sammenligne med metanmålingerne. Vomsammensætningen undersøges ved at analysere alle DNA-sekvenserne fra bakterier og archaea fra vomprøven. I nedenstående tabel ses et eksempel med 5 køer, hvor mængden af de forskellige DNA-sekvenser fra vomprøven er kvantitativt optalte.

	NUMMER PÅ DNA-SEKVENS				
NUMMER PÅ KO		1	2	3	4
	KO 1	200	54	11	378
	KO 2	642	284	34	222
	KO 3	84	33	71	12
	KO 4	742	110	0	967
	KO 5	249	99	26	1111

Efterfølgende kategoriseres køerne med korrelerende vomsammensætning i samme gruppe. Dette kaldes en cluster-analyse, da grupperne inddeles i klynger i et koordinatsystem som set på figur 2 til højre. Disse klynger sammenlignes efterfølgende med målingerne af metan for at se, om der eksisterer en sammenhæng mellem metanemission og vomsammensætning.



FIGUR 2: Eksempel på cluster-analyse. Illustration fra: https://www.statistik-nachhilfe.de/ratgeber/statistik/induktive-statistik/statistische-modellbildung-und-weitere-methoden/clusteranalyse

OMFANG

For at opnå resultater, der rent faktisk er repræsentative og kan bruges til noget, er omfanget af projektet nødt til at være stort. Der bør udtages vomprøver og laves metanmålinger på flere tusinde køer, men da dette er **utroligt dyrt**, vil budgettet blive enormt. Det er derfor heldigt, at der i forvejen findes eksisterende databaser over køer fra forskning i Foulum, som med fordel kan benyttes i stedet. Disse databaser indeholder store

mængder informationer om køerne i form af foderoptagelse, vægt, mælkeproduktion, metanemission, DNA-sekvenser fra vomprøver mm. Derved elimineres omkostninger til nye målinger væsentligt, og forskningen kan udføres for både få omkostninger og en afgrænset tidsramme. Grunden til, at koblingen mellem den mikrobielle sammensætning i vommen og emissionen af metan aldrig er undersøgt yderligere i Danmark, er helt simpelt på grund af tidsmangel og på grund af fokus andetsteds. Forskerne har kæmpe databaser med masser af data og har derfor indtil videre valgt at fokusere, som før nævnt, primært på sammenhængen mellem fodring og metanudledning. Dette skyldes, at ændring af fodersammensætning er en nem måde at mindske udledningen af metan, da virkningen er øjeblikkelig efter kun kort tids foderindtagelse - modsat andre metoder til reduktion af metanudledning som f.eks. genetisk selektion, hvor virkningen først observeres efter længere tids avl.

Da de allerede eksisterende databaser både indeholder data fra vomprøver og data omkring metanemission, kræver forskningen blot at få disse data analyseret, hvilket jeg endda selv er i stand til at gøre. Mit forskningsprojekt er altså realiserbart, da det blot kræver, at jeg skal have adgang til disse databaser og derefter få tid – og hjælp fra mine forskerkontakter - til at analysere dem.

I bilaget ses et budget og en tidsramme for et forsøg opstillet hypotetisk fra bunden, men som nævnt kræver forskningen slet ikke meget mere end tid til analyse af data og eventuelt løn til mine forskerkontakter for deres hjælp.

Hvis resultaterne fra forskningen fra de allerede-eksisterende databaser viser sig at give tydelige sammenhænge mellem vomsammensætning og metanudledning, vil en yderligere undersøgelse fra bunden dog være hensigtsmæssigt.

DISKUSSION & PERSPEKTIVERING

For at mindske køers metanudledning mest muligt, er det vigtigt at belyse området fra alternative vinkler, og dette er netop, hvad projektet hér gør. Projektet er utroligt realiserbart og forventes at vise en sammenhæng mellem køers mikrobielle vomsammensætning og deres emission af metan og på den måde lægge op til videre forskning inden for området. Videre forskning vil tage udgangspunkt i at undersøge, hvilke forhold, der gør sig gældende i specifikke vomsammensætninger, samt hvordan mikroberne heri kan stimuleres eller hæmmes.

Projektet kan gavne klimaet ved at være med til mindske nogle af de menneskeudledte drivhusgasser fra landbruget, hvilket, som tidligere nævnt, er tiltrængt. (Pickering, et al., 2015, s. 2) (Lassen, Haas, Pszczola, Soyeurt, & Wall, 2017, s. 1) Projektet kan desuden også gavne selve kvægproduktionen, da mindre udledning af metan er lig med overskydende energi til andre processer i koen som f.eks. mælkeproduktion. Derudover kan det også komme landmændene til gode i fremtiden, hvis der lægges afgifter på udledningen af drivhusgasser. Måske er det lige netop, hvad der er brug for, for at sparke forskningen ordentligt i

gang. Afgifter på udledning af drivhusgasser vil nemlig give landmændene incitament til at nedbringe køernes emission af metan, da de vil kunne drage økonomisk profit af det. Derved vil de også ønske at støtte med flere penge til forskningen i køers metanudledning, hvorved projekter som mit vil få mere betydning.

KONTAKTER

Undervejs i forløbet har jeg modtaget hjælp og vejledning fra to forskerkontakter:

- **Jan Lassen** fra Aarhus Universitet, Institut for Molekylærbiologi og Genetik – Center for Kvantitativ Genetik og Genomforskning
- **Peter Løvendahl** fra Aarhus Universitet, Institut for Molekylærbiologi og Genetik – Center for Kvantitativ Genetik og Genomforskning

En kæmpe tak til begge for at hjælpe mig med mit projekt samt for fin rundvisning hos Aarhus Universitets afdeling i Foulum.

Desuden tak til min koordinater, Finn Nielsen, fra Rosborg Gymnasium og HF for både vedledning og diverse hjælp til alt det praktiske gennem forløbet. Endvidere også tak til mine medspirere fra Rosborg Gymnasium og HF for støtte og opbakning undervejs samt op til projektskrivningen.

LITTERATURLISTE

BIBLIOGRAFI

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D., et al. (2011). *Enterotypes of the human gut microbiome.* Nature vol. 473. Macmillan Publishers.

Egne forskere.

Evert, D. C., Wagner, T., Shima, S., Prakash, D., Cronin, B., Yáñez-Ruiz, D. R., et al. (2016). *Mode of acyion uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol.* PNAS, University of Florida, Gainesville.

Johannes, M., Lund, P., Hellwing, A. F., & Weisbjerg, M. R. (2012). *Hvad betyder fodring for metanemission?* Aarhus Universitet, Institut for Husdyrvidenskab, Tjele.

Kristensen, N., & Hvelplund, T. (2004). *Mikrobiel omsætning i vommen hos den højtydende malkeko.* Aarhus Universitet, Afdeling for Husdyrernæring og Fysiologi. Tjele: Dansk Kvæg.

Kristensen, T., & Lund, P. (2001). *Kvæg og klima.* Aarhus Universitet, Institut for Agroøkologi, Tjele.

Lassen, J., Haas, Y., Pszczola, M., Soyeurt, H., & Wall, E. (2017). *Phenotypes to genetically reduce greenhouse gas emissions in daiyring.* American Daily Science Association.

Lund, P. (2000). *Metan tab hos malkekøer og mulighed for reduktion.* Aarhus Universitet, Det Jordbrugsvidenskabelige fakultet, Tjele.

Lund, P., Weisbjerg, M. R., Johannes, M., Hellwing, A. F., & Hvelplund, T. (2009). *Angående sammenhængen mellem fodring og metanproduktion.* Aarhus Universitet, Institur for Husdyrbiologi og Sundhed, Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet, Tjele.

Pickering, N., Lassen, J., Oddy, V., Basarab, J., Cammack, K., Hayes, B., et al. (2015). *Genetic possibilities to reduce enteric methane emissions from ruminants.* The Animal Consortium.

Weisbjerg, M. R., Lund, P., & Hvelplund, T. (2005). *Metan fra drøvtyggere.* Kvæginfo nr. 1438.

BILAG

BUDGET

Hvis projektet rent hypotetisk skal opstilles helt fra bunden, er der naturligvis omkostninger.
I nedenstående tabel ses omkostningerne for målinger og prøver fra en enkelt ko.

ELEMENT	PRIS
Vomprøve	1500 kr
Metanmåling	200 kr
Afgifter for brug af ”forsøgsko,” også dækkende over strøm, lønninger mm.	2000 kr

Der vil derfor med et budget på 20.000 kr. være råd til at undersøge omkring 5 køer, hvormed det kun rækker til et lille pilotforsøg. For at udføre et repræsentativt forsøg kræver det, at antallet af køer er meget større.

TIDSRAMME

Projektet bør kunne udføres på omkring 5-6 uger, da udtagelse af vomprøverne ikke er tidskrævende og kan ske på samme tid med metanmåling.. At analysere målingerne samt at sammenfatte resultaterne i en rapport tager dog længere tid, da datasættene er store. En estimering af tidsrammen ses i nedenstående tabel:

OPGAVE	VARIGHED
Udtagelse af vomprøver	1-2 døgn
Måling af metan	3 uger
Analyse af data + sammenfatning i rapport	2-3 uger

Men da databaserne over køernes forskellige målinger allerede eksisterer, giver det naturligvis mening blot at benytte disse i stedet for at lave undersøgelserne fra bunden igen. Projektets omkostninger bliver derved formindskede, da det kun kræver løn til hjælp fra forskerkontakter. Derudover afgrænses tidsrammen desuden til udelukkende sidste punkt.