

Tanniner i vallfodret för ökad kväveeffektivitet i ekologisk mjölkproduktion

Slutredovisning av Ekoforskprojekt

Torsten Eriksson, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Kungsängens forskningscentrum, 753 23 Uppsala, Torsten.Eriksson@slu.se, 018-67 16 43

Nilla Nilsson-Linde, SLU, Institutionen för växtproduktionsekologi

Jan Jansson, Hushållningssällskapet Sjuhärad

Sammanfattning

Två år i följd gjordes försök med mjölkkor i mittlaktation vid Kungsängens forskningscentrum, där blandensilage med engelskt rajgräs och en baljväxt som var antingen käringtand eller vitklöver utfodrades tillsammans med kraftfoder (30–35 % av foderstatens torrs substans). Försöken var av change-overtyp, med tre fyraveckorsperioder per år och byte av ensilageslag mellan korna varje period. Ensilagen hade likvärdiga råprotein- och NDF-halter (161 respektive 385 g/kg ts) och utfodrades på en nivå nära fri tillgång så att båda foderstaterna gav en positiv energibalans, med 102–110 % behovstäckning av omsättbar energi och nettoenergi. Proteinförsörjningen (AAT) var däremot begränsande, både enligt AAT/PBV-systemet och enligt NorFor-systemet. Käringtandfoderstaten gav tendens ($p = 0,06$) till 0,8 kg större mjölkproduktion per dag och både högre mjölkproteinhalt och 36 g större mjölkproteinproduktion/dag ($p < 0,01$ för båda). Den ökade mjölkproteinproduktionen var i samma storleksordning som den förbättrade AAT-tillförseln med käringtand (48 g/dag). Koncentrationen av våmammoniak var lika för foderstaterna, medan mjölkureahalt och urinkväveutsöndring var högst med käringtand ($p < 0,01$), i motsats till vad som förväntades. Med käringtand minskade ($p < 0,001$) smältbarheten av torrs substans (-50 g/kg), organisk substans (-52 g/kg), NDF (-120 g/kg) och råprotein (-24 g/kg). Den sämre smältbarheten av råprotein med käringtand uppvägdes dock mer än väl av minskad våmnedbrytbarhet, så att nettotillskottet av våmskyddat, smältbart råprotein motsvarade den beräknade ökningen av AAT-intaget. De sänkta smältbarheterna av organisk substans och NDF med käringtand överensstämde väl med de skillnader som uppmättes med VOS-analys, *in sacco*-inkubation och med simulering i NorFor. De motsvarades likaså av lägre koncentration av flyktiga fettsyror (VFA) och högre pH i våmmen med käringtand. Resultaten tyder på att käringtand i svenska mjölkfoderstater har positiva effekter på proteinförsörjningen trots att odlingsklimat, blandvallar och utspädning med kraftfoder ger låga halter av kondenserade tanniner i totalfoderstaten.

Bakgrund

Vallfoder är den största inhemska proteinkällan i ekologiska mjölkfoderstater, men en grundläggande begränsning är att nedbrytningshastigheten i våmmen är så hög att utnyttjandet blir dåligt. Det gäller i synnerhet för ensilage, där en omfattande nedbrytning sker av proteinet till enkla kväveföreningar genom påverkan av växtproteaser och mikroorganismer. Protein nedbrytningen i ensilage kan minskas genom förtorkning och med tillsatsmedel, framförallt syrabaserade sådana (Jaakkola m.fl., 2006). Vissa vallväxter innehåller sekundära metaboliter som minskar proteinnedbrytningen, såsom polyfenoloxidas i rödklöver (Sullivan & Hatfield, 2006) och, framförallt, kondenserade tanniner som förekommer i en rad växter (Mueller-Harvey, 2006).

Verkningsmekanismen bakom förbättrat proteinutnyttjande hos vallväxter med kondenserade tanniner är att ett tannin-proteinkomplex bildas, som skyddar proteinet mot nedbrytning. Hos ett betande djur sker det i våmmen, när tanninerna, som övervägande finns i löslig form, får möjlighet att binda till proteiner i det sönderdelade fodret. Ensileras vallfodret, bildas tannin-proteinkomplexen redan i silon (Salawu m.fl., 1999). När komplexet når löpmagen löses det upp av det låga pH (ca 2,5) som råder där, och proteinet kan sedan tas upp i tunntarmen (Jones & Mangan, 1977).

För svensk del är det i första hand käringtand (*Lotus corniculatus* L.) som är aktuell som tanninnehållande vallbaljväxt. I Kanada, USA, Sydamerika och Nya Zeeland är käringtand vanlig, framförallt som betesväxt (MacAdam m.fl., 2006), medan den har relativt begränsad utbredning i Sverige. Odlingsförsök har visat att käringtand under svenska förhållanden passar bäst i samodling med gräs och då från och med andraårsvallen kan nå samma avkastning som en rödklöver/gräsvall (Nilsson-Linde, 1999). Under svenska klimatförhållanden får käringtand en relativt låg halt av kondenserade tanniner, som mot bakgrund av internationell litteratur inte antogs ha några effekter på idisslares proteinutnyttjande fram till slutet av 1990-talet. I försök av Hedqvist m.fl. (2000) visade det sig dock att det fanns en negativ korrelation mellan halten kondenserade tanniner och proteinets buffertlöslighet också i svenskodlad käringtand och därmed en potential för förbättrat proteinutnyttjande.

Syftet med den utfodringsstudie som rapporteras här var att undersöka om käringtand jämfört med vitklöver har potential att förbättra mjölkorns proteinförsörjning och kväveutnyttjande i form av ensilage från blandvallar, som är den helt dominerande grovfodertypen i Sverige. Eftersom fokus låg på kornas kväveomsättning fick de en styrd grovfodergiva som var avsedd att ge samma kväveintag med båda foderstaterna.

Material och metoder

Odling

Vallar för att producera ensilage till utfodringsförsöket anlades våren 2005 på Rådde ekologiska försöksgränd utanför Borås med de sorter och utsädesmängder som anges i tabell 1. Skälet för att använda olika rajgrässorter var behovet att kompensera för den större konkurrensförmågan hos vitklöver jämfört med käringtand. Den diploida sorten Herbie ger ett tätare bestånd än den tetraploida Condesa (Orr m.fl., 2003) och dessa sortkombinationer har tidigare framgångsrikt använts för att styra andelen vitklöver och käringtand i försök (Nilsson-Linde m.fl., 2004).

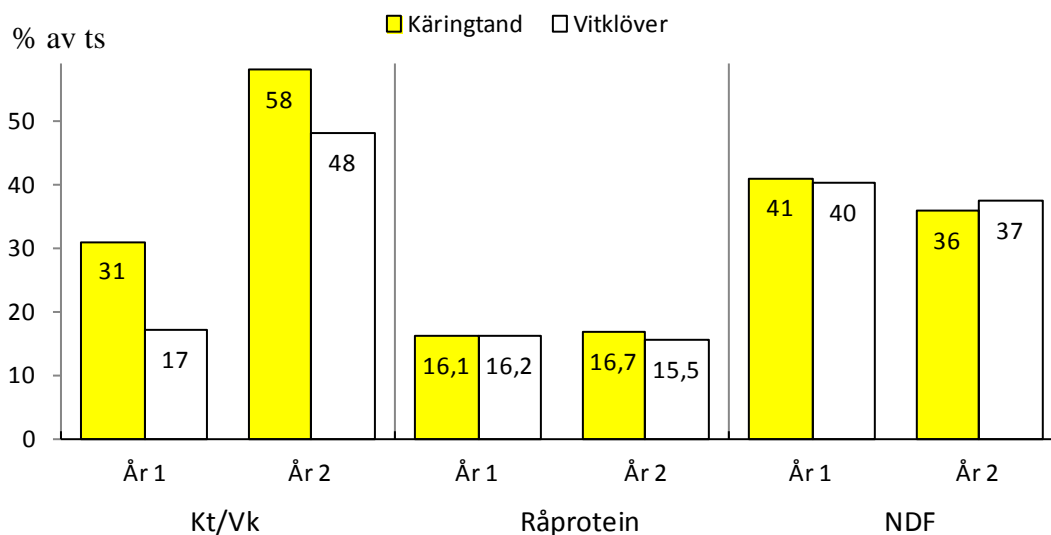
Jordarten på odlingsplatsen var en måttligt mullhaltig sandig moränmo med pH 6,4, P-AL 3,9 mg/100g jord och K-AL 5,5 (analys från hösten 2004). Vid anläggningen myllades ca 20 ton djupströgsodling ned.

Tabell 1. Utsädesmängder i ensilagevallar för mjölkförsök

Vall	Insåningsgröda (kg/ha)	Fröblandning (art, sort, utsädesmängd kg/ha)
Käringtandblandning	Havre Cilla (172)	Käringtand Oberhaunstaedter (12) + eng. rajgräs Condesa (8)
Vitklöverblandning	Havre Cilla (172)	Vitklöver Lena (3) + eng. rajgräs Herbie (20)

Vallarna såddes in i havre, som skördades som helsäd första veckan i juli 2005 (År 1). För att styra råprotein- och NDF-halter till önskad nivå klipptes varje vecka från början av augusti prognosprover, som analyserades beträffande råprotein, NDF och omsättbar energi (VOS). Vallarna slogs med slåtterkross den 24 augusti, förtorkades till ca 45 % ts och ensilerades i rundbalar med rekommenderad dos (4 l/ton färskvikt) av en bakterieinokulant som också innehöll cellulas och natriumbensoat (Lactisil 200 NB). I samband med skörden togs prover av växande käringtandplantor i fält, som omedelbart frystes in i flytande kväve för senare tanninanalys. Under förtorkningsskedet togs från strängarna prov som sorterades upp i de botaniska fraktionerna käringtand, vitklöver, rajgräs, gräsgräs, örtogräs och havreåterväxt.

Vallarna hade vid skörden År 1 relativt låg baljväxtandel, 31 % käringtand respektive 17 % vitklöver, men exakt samma råprotein- och NDF-halter (figur 1). Inför År 2 behölls fjolårets vallar och skördades enligt samma rutiner tre gånger; 15 juni, 25 juli och 11 september. Dessutom etablerades ett mindre renbestånd av käringtand utan skyddsgröda våren 2006 och skördades första gången i början av augusti samma år. Vid andraskörden 10 oktober hade den vallen en mycket stor käringtandandel, 91 %. För att höja baljväxtandelen År 2 och därmed öka möjligheten att se effekter av den tanninnehållande käringtanden blandades partier från olika skördar innan utfodring. Renbeståndet blandades före utfodring i proportionerna 1:3 med en tredjaskörd av den befintliga käringtandblandvallen. Det gav en total käringtandandel av 58 % i det ensilage som utfodrades (figur 1). För att åstadkomma en vitklöverblandning med likartad kemisk sammansättning blandades första- och tredjaskörden av vitklöverblandvallen som etablerats året innan i proportionerna 1:2. Det gav en något lägre råproteinhalt i vitklöverblandningen men i praktiken samma NDF-halter. Allt ensilage som utfodrades hade bra hygienisk kvalitet med 4–7 % ammoniumkväve av totalkvävet och mindre än 0,1 % smörtsyra av ts.



Figur 1. Sammansättning (% av ts) hos utfodrat blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Botanisk sortering vid skörd, kemisk analys baserad på prover tagna vid varje utfodringstillfälle. Kt/Vk = andel av käringtand respektive vitklöver i blandningen.

Mjölkkoförsök

Utfodringsförsök av change-overtyp genomfördes vid Kungsängens forskningscentrum under två på varandra följande stallsäsonger, vårvintern 2006 med 12 kor och vårvintern 2007 med 14 kor. Alla kor var av SRB-ras. Sex av korna deltog båda åren. Varje år var fyra kor förstakalvare och genomsnittligt laktationsnummer var 2,3 ($\pm 1,3$). Vid försöksstart År 1 och 2 var korna i laktationsdag 72 (± 16) och 60 (± 28), genomsnittlig levande vikt var 630 (± 56) och 598 (± 82) kg och dygnsavkastningen var 32 (± 5) och 35 (± 5) kg ECM. Varje försök bestod av tre fyraveckorsperioder, där de tre första veckorna var anpassningsperiod och den sista veckan mätvecka innan korna bytte foderstat med varandra. Kvävebalans mättes genom urinuppsamling och träckprovtagning på 8 kor. Av dessa var 4 våmfistulerade och användes för våmstudier. På grund av förskjuten kalvningstidpunkt År 2 gick två av fistelkorna detta år in i försöket till period 2.

Försöksbehandlingarna utgjordes av de två ensilageslagen. Eftersom försöksfokus låg på kornas utnyttjande av foderprotein var det viktigt att råproteinintaget var lika för foderstaterna. Därför var inte utfodringsnivån *ad libitum* utan individuellt begränsad till en ts-giva som beräknades täcka energibehovet (Spörndly, 2003) vid försöksstart med den något energisvagare käringtandfoderstaten. Samma ts-giva behölls sedan genom hela försöket. Ensilage utgjorde 65 % av foderstaten År 1 och 70 % År 2. År 1 kompletterades ensilaget med ett specialtillverkat pelleterat kraftfoder (47,2 % korn, 20 % havre, 12 % rapskaka, 18 % ärter och 2,8 % mineral-vitamin premix). År 2 utgjordes kompletteringen av kornkross. Båda åren fick korna dessutom 150 g mineralfoder Kvarnby VM 0,9/d.

Korna hölls uppbundna i kortbås med gummimattor strödda med en blandning av kutterspån och hackad halm. De mjölkades 06:30 och 15:30. Ensilage och kraftfodren utfodrades i separata tråg för att kunna skilja resterna åt. Under de tre anpassningsveckorna utfodrades med automatiska fodervagnar, men under mätveckan skedde utfodringen manuellt. Ensilage utfodrades med tre jämnstora givor 05:45, 12:00 och 17:00, medan kraftfodret utfodrades 06:00, 09:00, 12:15 och 17:15. Foderrester vägdes dagligen 11:45.

Provtagningar och analyser

Korna vägdes och hullbedömdes 10:00 dag 20 och 21 i varje period. Dag 24 och 25 provmjölkades de med Tru-Test. Mjölken analyserades med avseende på fett, protein, laktos och cellhalt med rutinmetoder (IR-teknik) vid Kungsängens forskningscentrum. Mjölakens ureahalt analyserades av Steins A/S, Horsens, med den pH-differensmetod (Ramsing m.fl., 1980) som är referens för kalibrering av rutinmässig IR-analys i kokontrollen.

Foderprover togs vid varje utfodring under mätveckan och frystes in. De slogs sedan i fryst tillstånd samman till ett prov per foderslag och period. Kraftfodren torkades i 60° C medan ensilaget frystorkades. Proven maldes sedan genom 1 mm såll på hammarkvarn (Kamas). Käringtandensilagen analyserades med avseende på fördelning mellan lösliga, proteinbundna och fiberbundna tanninfraktioner genom två efterföljande extraktioner av proven, först med aceton/vatten och därefter med natriumdodekylsulfat (Lorenz m.fl., 2010). Den fiberbundna tanninfraktionen definierades som kvarvarande tannininnehåll i provresten efter de båda extraktionerna. De djupfrysta käringtandplantor som plockats vid skördetillfällena frystorkades och maldes som ensilaget, och halten kondenserade tanniner analyserades med radial diffusion (Hagerman, 1987).

I övrigt analyserades foderproven med de våtkemiska standardmetoder som tillämpas vid Kungsängens forskningscentrum. Torrsubstans bestämdes genom torkning vid 103° C över natt och aska vid 550° C i 3 timmar. På grund av de flyktiga ämnena betraktades för ensilaget återstående viktandel efter frystorkning som den sanna torrsubstanshalten och alla kemiska analyser anges på den basen. Saltsyraolöslig aska analyserades i fodren för smältbarhetsbestämning (Van Keulen & Young, 1977). Mineralinnehållet analyserades med induktivt kopplad plasma-atomemissionsspektroskopi (ICP) på en Spectroflame (Spectro GmbH, Kleve, Tyskland). Råfett analyserades som "EG-fett" (metod IV, SLL 39, 1989). NDF bestämdes i form av "amylase-treated neutral detergent fiber organic matter (aNDFOM)" genom att anpassa gängse ugnsmetod (Chai & Udén, 1998) till Mertens (2002) standard. Växttråd för beräkning av omsättbar energi i kraftfodren analyserades enligt Jennische & Larsson (1990). Stärkelse och socker analyserades enzymatiskt (Larsson & Bengtsson, 1983). Råprotein bestämdes som 6,25 x Kjeldahlkväve (Kjeltec 2700, Tecator, Höganäs). Total andel lösligt råprotein mättes i borat-fosfatbuffert (Åkerlind m.fl., 2011) och andelen lösligt äkta protein bestämdes genom fällning med triklorättiksyra (Hedqvist & Udén, 2006). Ensilagesaft

från pressning användes för analys av ammoniak och α -amino-N (Broderick & Kang, 1980), för pH-mätning och för analys av fermentationsprodukter med HPLC (Andersson & Hedlund, 1983). Omsättbar energi i kraftfodren bestämdes från råanalys (Axelsson, 1941) och i ensilaget med VOS-metoden (Lindgren, 1979). Dessutom gjordes VOS-inkubationer med tillsats av polyetylenglykol (PEG), som inhiberar effekten av kondenserade tanniner. Nedbrytnings-hastighet *in sacco* av råprotein och NDF liksom osmältbar NDF (iNDF) bestämdes enligt Norfors standard (Åkerlind m.fl., 2011).

Urinuppsamling gjordes under 3 dygn, med början 06:00 dag 25. Korna bar över vulva en vadderad gummikåpa som hölls på plats med en sele runt rygg-bringa-framben. Från kåpan leddes urinen genom en dammsugarslang till plastdunkar. Dunkarna byttes var tolfte timme. Som konserveringsmedel i dunkarna användes 1,8 M svavelsyra för att sänka pH under 4 (1,2–1,5 l, individuellt avpassat) och undvika ammoniakförluster. Vid dunkbytet morgon och kväll vägdes urinen, pH mättes och prov togs ut efter mixning. Ett prov motsvarande 50 ml/kg syrad urin fylldes i en plastdunk och förvarades i kylskåp till uppsamlingens avslutande, då ett periodprov från varje ko togs ut och frystes in, uppdelat på olika rör för olika analyser. Proven analyserades med avseende på Kjeldahlkväve och med en Technicon AutoAnalyzer för urea (Technicon, 1974a), kreatinin (Technicon, 1974b) och allantoin (Lindberg & Jansson, 1989).

Träckprover togs morgon och kväll dag 25–28, totalt 8 prov per ko. Proven samlades upp i hinkar när korna träckade spontant och 500 ml prov frystes in från varje provtagningstillfälle. Efter mätperiodens slut tinades proven och slogs ihop till ett periodprov per ko som sedan vägdes in i Petriskålar för frystorkning och analys av ts, aska, saltsyraolöslig aska, Kjeldahlkväve och NDF på samma sätt som för fodren. År 2 analyserades också iNDF i fistelkornas träckprover för ett metaanalysprojekt av passagehastigheter med nordiska foderstater (Krizsan m.fl., 2010). Även för träckproven betraktades viktandelen efter frystorkning som den sanna torrsubstansen och användes i beräkningarna.

Våmvätskeprov togs från de 4 fistelkorna vid 18 av dygnets timmar, utspritt under dag 25–28. Ett 50 ml centrifugrör sänktes ned ca 20 cm under våmtäckets yta och fick vätskefyllas. Vätskan silades omedelbart genom en tesil, pH mättes och delprov frystes in i Eppendorfrör för senare analys av ammoniak, α -amino-N och flyktiga fettsyror (VFA) som beskrivits för ensilagesaft. Ammoniak och α -amino-N analyserades i alla prover medan VFA analyserades i samlingsprov hopslagna inom ko och period. Som kontroll analyserades VFA också i de två prov som togs i samband med våmtömningar. Våmtömningarna gjordes 11:00 dag 25 och 27. Av hela innehållet samlades 10 % i ett provtagningskärl och resten återfördes efter vägning till våmmen. Från provtagningskärlat vägdes efter blandning fyra replikat upp i Petriskålar för frystorkning och senare analys av ts, aska, Kjeldahlkväve, NDF och År 2 även iNDF med samma metoder som för fodren. Liksom för ensilage och träck användes viktandelen efter frystorkning som den sanna torrsubstanshalten.

Statistisk bearbetning och NorFor-simulering

Resultaten från båda försöksåren analyserades tillsammans som ett experiment med procedur MIXED i SAS, version 9.2. Analysen gjordes av professor Lennart Norell, Statistiska institutionen, Uppsala universitet. Fullständig beskrivning av statistiska metoder med resultattabeller finns i Bilaga 1. De viktigaste resultaten presenteras i diagramform i avsnittet Resultat och diskussion. Resultaten presenteras som least square means (minsta kvadratmedelvärden) och p-värde för skillnad mellan de båda foderstaterna och i Bilaga 1 redovisas också övriga huvudeffekter och samspelseffekter.

Energi- och proteinförsörjning samt smältbarhet modellerades också i NorFor (Volden, 2011) från årsvisa behandlingsmedelvärden för förstakalvare och äldrekor och viktades ihop till medelvärden för foderstaterna.

Resultat och diskussion

Tanninhalter och fördelning på fraktioner

Tanninhalterna i de botaniskt sorterade skördeproverna med enbart käringtand var 16 g/kg ts År 1 och 18 g/kg ts År 2, mätt med radialdiffusionsmetoden. Det är i överensstämmelse med resultaten från svenska sortförsök, där Oberhaunstaedter konsekvent haft tanninhalter i området 11–20 g/kg ts (Halling, 2008). Hedqvist m.fl. (2000) fann tanninhalter upp till 10 g/kg ts och motsvarande respons på proteinets buffertlöslighet i sju sorter av svenskodlad käringtand där inte Oberhaunstaedter ingick. I de här rapporterade mjölkförsöken tillämpades metoder som är aktuella i praktisk mjölkproduktion; käringtand odlades i blandvallar och i foderstaten ingick 30–35 % kraftfoder. Det innebär en utspädning av tanninhalten i foderstaten till ca 3 g/kg ts År 1 och ca 7 g/kg ts År 2. Det gör också att de förväntade effekterna på kornas kväveomsättning blir mycket mindre än om renbestånd av käringtand skulle ha utgjort hela foderstaten, som kan vara fallet vid betesförsök.

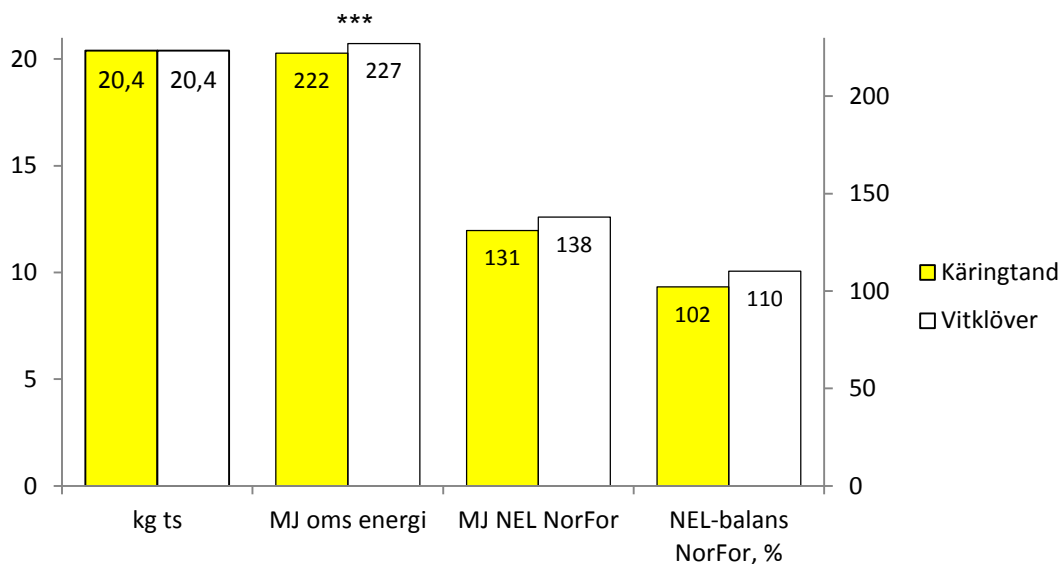
Fördelningen mellan olika tanninfraktioner i det utfodrade ensilaget var ca 45/35/20 för respektive lösliga/proteinbundna/fiberbundna tanniner. Den höga andelen lösliga tanniner (och motsvarande låga andel proteinbundna tanniner) liknade mer vad Scharenberg m.fl. (2007) rapporterade för färsk käringtand än vad de fann i käringtandensilage. Det är osannolikt att protein-tanninbindningen i det blandensilage som utfodrades på Kungsängen skulle ha hämmats på grund av ensilagets pH, som var 4,5–5,0. Det är bara måttligt lägre än pH 5,4 i försöket av Scharenberg m.fl. (2007) och högre än i det esparsettensilage där Lorenz m.fl. (2010) fann en proteinbunden tanninandel om 70 %. Bindningen protein-tannin rapporteras vara stabil vid pH 3,5–7,0 men lösas upp vid pH 2,5 som råder i löpmagen (Jones & Mangan, 1977).

Jämförelser mellan olika försök av analyserade tanninhalter och observerade effekter försvåras både av att olika analysmetoder ger olika resultat och av att den proteinbindande förmågan påverkas av en rad faktorer. Ett antal metoder finns för analys av kondenserade tanniner, där radial diffusion (RD; Hagerman, 1987) använts vid officiell sortprovning i Sverige. Den kan bara användas för att mäta lösliga tanniner i den form som de föreligger i den växande plantan. Extrakt från direktfrysta plantor droppas i brunnar på en gel som innehåller ett protein, oftast blodserumalbumin (BSA) som tanninerna kan binda till. Storleken på den ring som bildats efter 96 timmar mäts och jämförs med ringar från en standardlösning med känd tanninhalten. Metodens fördel är att den ger ett svar i proteinbindande förmåga snarare än i en absolut tanninhalten. Metoder som direkt mäter tanninhalten, t.ex. HCl/butanolmetoden, ger inte den informationen eftersom olika tannintyper kan ha helt olika bindningsförmåga (Mueller-Harvey, 2006). De ger däremot möjlighet att mäta tanniner som inte längre är intakta och kan därför användas för att med hårdhänta extraktionsmetoder avgöra hur stor del av tannininnehållet i ensilage som är lösligt respektive proteinbundet eller fiberbundet (Terrill m.fl., 1992; Lorenz m.fl., 2010).

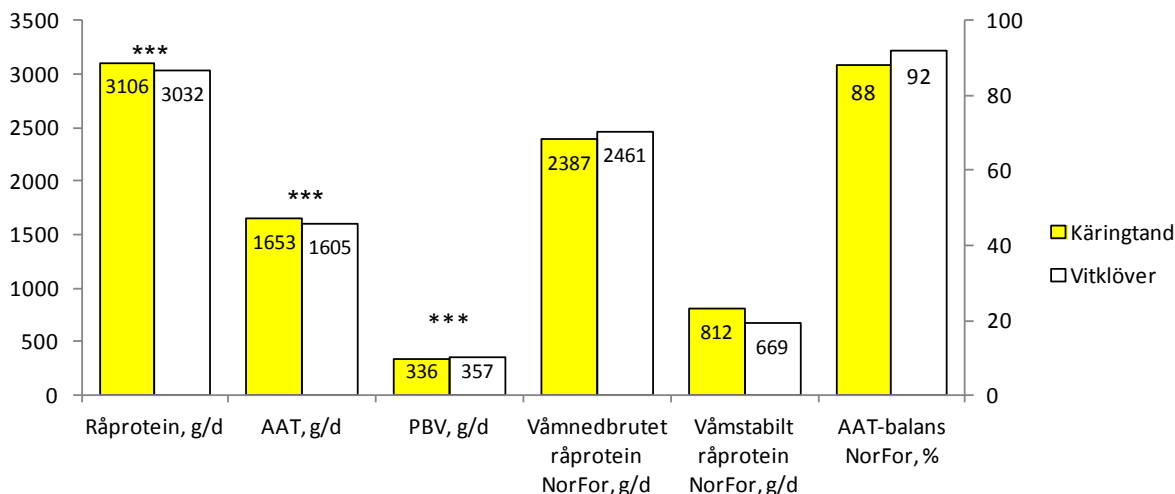
Foderintag och näringsförsörjning

Utfodringsnivån gav begränsade foderrester (0,7 kg ts/d) och intagsvariationen var liten. Torrsubstansintaget skilde inte mellan foderstaterna, medan beräknat energiintag skilde, både som omsättbar energi (Spörndly, 2003) och som nettoenergi enligt NorFor-systemet (figur 2), även om den sistnämnda skillnaden inte kunde testas statistiskt. Energibalansen var enligt båda systemen positiv med 105 % och 109 % behovstäckning av omsättbar energi samt 102 % och 110 % behovstäckning av nettoenergi för käringtand och vitklöver. Eftersom utfodringsnivån var individuellt anpassad för att täcka kornas energibehov vid försöksstart speglar den positiva energibalansen avkastningsnedgången (och det därmed minskade energibehovet) från försöksstart till medelnivån för varje behandling.

Det totala råproteinintaget var något större med käringtandfoderstaten, beroende på skillnaderna mellan ensilagen År 2 (figur 3). Lägre buffertlöslighet hos käringtandensilagens råprotein gjorde att PBV och dagsintaget av våmnedbrutet protein blev något mindre med den foderstaten, men att intaget av våmstabil protein och därmed också AAT ökade i motsvarande grad. Enligt det statistiska AAT/PBV-systemet (Madsen, 1985; Spörndly, 2003) var behovstäckningen för AAT 100 % med båda foderstaterna om den våmnedbrytbarhet (EPD) för ensilagen som uppmätts genom buffertlöslighet och *in sacco*-inkubation användes. AAT-balans enligt NorFor-systemet visar inte tillförseln i förhållande till ett minimibehov utan i förhållande till vad som krävs för att nå maximal mängd mjölkprotein vid en viss energitillförsel. Rekommenderat värde är 95–103 % (Volden, 2011), men ingen av foderstaterna nådde dit (figur 3). Både AAT/PBV-systemet och NorFor-systemet pekar alltså mot att proteinförsörjningen begränsade kornas avkastning så att skillnader i proteinkvalitet mellan ensilagen kunde ge utslag.



Figur 2. Intag och energiförsörjning hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Utfodringsnivån var individuellt justerad till att täcka kornas energibehov vid försöksstart och hölls konstant, vilket gav 0,7 kg ts rest/dag. Samma råprotein- och NDF-halter i båda ensilagen. Foderstaten utgjordes till 33 % av kraftfoder. ***, $p < 0,001$. NorFor-simuleringarna är gjorda för behandlingsmedelvärden och eventuella signifikanser framgår inte.

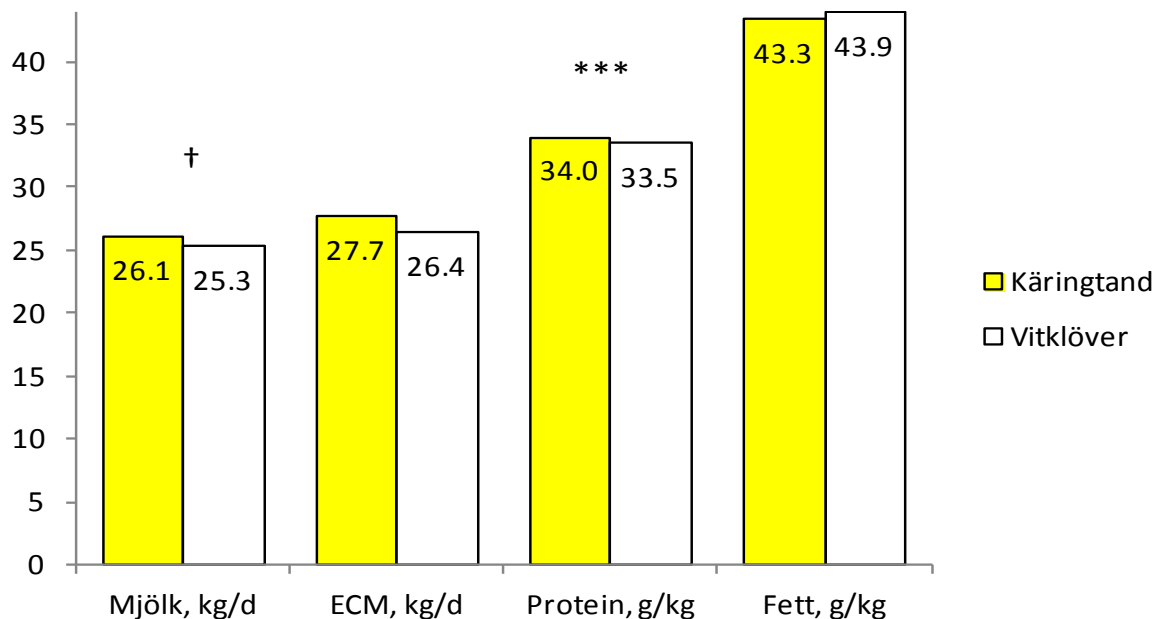


Figur 3. Proteinförsörjning hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Foderstaten utgjordes till 33 % av kraftfoder. AAT och PBV enligt Spörndly (2003). ***, $p < 0,001$. NorFor-simuleringarna är gjorda för behandlingsmedelvärden och eventuella signifikanser framgår inte.

Mjölkkavkastning och mjölksammansättning

Skillnaderna i avkastning och mjölksammansättning mellan foderstaterna var relativt små (figur 4), men det fanns en tendens ($p = 0,06$) till 0,8 kg större dygnsavkastning med käringtandfoderstaten. Den numeriskt större skillnaden i ECM-avkastning räckte inte till signifikans ($p = 0,21$) på grund av större variation. Mjölakens proteinhalt var något högre med käringtandfoderstaten och dygnsmängden mjölkprotein var 36 g större med käringtand ($p = 0,002$), medan fetthalt och dygnsmängd mjölkfett inte skilde mellan foderstaterna.

Även om avkastningsskillnaderna är begränsade så överensstämmer de med kornas energi- och proteintillförsel. Energigtillförseln, både som omsättbar energi (Spörndly, 2003) och som nettoenergi enligt NorFor-systemet (Volden, 2011), var i överskott medan proteinförsörjningen begränsade avkastningen. Den förbättrade AAT-tillförseln med käringtandensilaget påverkade främst mjölkproteinavkastningen. Skillnaden i beräknat AAT-intag är framförallt en effekt av minskad buffertlöslighet i käringtandensilaget och motsvarande ökning av våmskyddat protein ("bypass-protein"). Det är i linje med den sänkning av proteinets buffertlöslighet med ökande tanninhalt som Hedqvist (2004) fann. Sänkt löslighet av ensilagens råprotein som beror på bindning tannin-protein borde också innebära att proteinet verkligen har stor möjlighet att passera till löpmagen. En löslighetssänkning som beror på förtorkning eller syratillsats verkar bara ha begränsad effekt, eftersom det extra tillskottet av olösligt protein har en hög nedbrytningshastighet (Huhtanen m.fl., 2008). Visserligen passerade mer kväve osmält till träcken med käringtandensilaget, som ofta är fallet med foder som innehåller kondenserade tanniner. Tillskottet av våmskyddat protein med käringtand ($812 - 669 = 143$ gram i figur 3) var dock 43 gram större än den extra mängd som hamnade i träcken – i samma storleksordning som den ökade mjölkproteinavkastningen.



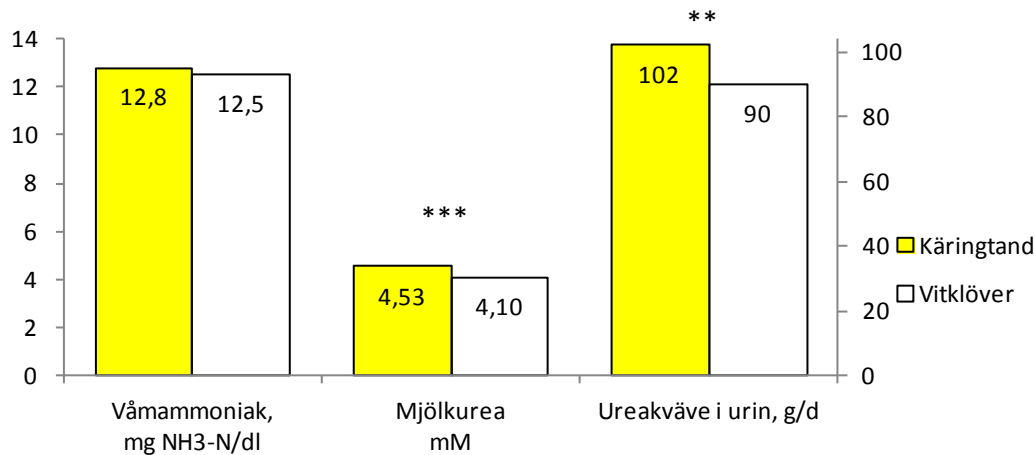
Figur 4. Produktion hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Samma intagsnivå och samma råprotein- och NDF-halter i båda ensilagen. Foderstaten utgjordes till 33 % av kraftfoder. ***, $p < 0,001$; †, $p < 0,10$.

Kväveomsättning och proteinutnyttjande

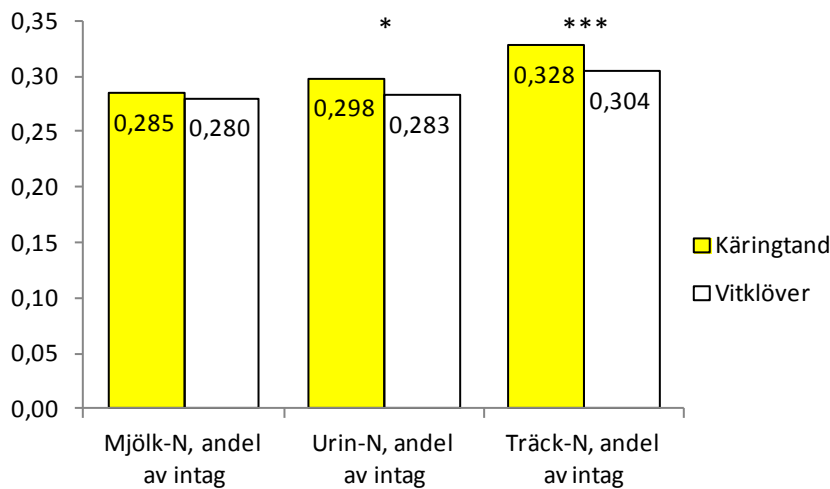
Den förväntade effekten av käringtandensilage var mindre andel våmnedbrutet foderprotein, vilket skulle bli synligt genom lägre halt av våmammoniak och mjölkurea samt ökad produktion av mjölkprotein. Vidare förväntades en förskjutning av kväveutsöndringen från urin till träck. Produktionen av mjölkprotein ökade verkligen, medan halten av våmammoniak var oförändrad och mjölkureahalten istället ökade med käringtand (figur 5). Uppmätta mängder av både urin- och träckkväve ökade med käringtand (figur 6), vilket också ledde till att balansen, den icke återfunna delen av foderkvävet, blev mindre än för vitklöver. Det är vanligt i mjölkstudier att kvävebalanserna blir högre än vad som kan förklaras av kroppsansättning (Spanghero & Kowalski, 1997) och det säkraste måttet på kväveutnyttjande bör ändå vara hur stor del av foderprotein som återfanns i mjölken. För den grupp om 8 kor där fullständig mätning av kvävebalansen gjordes fanns ingen signifikant skillnad mellan foderstaterna (figur 5: mjölk-N av total N; $p = 0,23$), men för det samlade djurunderlaget med 12 respektive 14 kor de båda åren fanns en tendens till att större andel av foderprotein återfanns i mjölken med käringtand (28,4 % jämfört med 27,7 % för vitklöver; $p = 0,08$).

Av urinkvävet var två tredjedelar ureakväve, som är den fraktion som snabbast bildar ammoniak (Bussink & Oenema, 1998). Kreatininutsöndringen skilde inte mellan foderstaterna, vilket är enligt förväntningarna eftersom den står i relation till djurets kroppsvikt (Antoniewicz m.fl., 1981). Allantoinutsöndringen, som är ett mått på våmmens mikroproteinproduktion, var korrelerad med mängden smält organisk substans ($r = 0,47$), men skilde inte mellan foderstaterna. Käringtandfoderstaten borde leda till minskad mikroproteinproduktion, genom mindre intag av våmnedbrutet protein och genom direkt inhiberande verkan på mikrober (Waghorn, 2008), men allantoinutsöndringen tyder inte på någon sådan effekt. Halterna av våmammoniak och mjölkurea motsäger också att mikroproteinproduktionen skulle ha hämmats av dålig kvävetillgång i våmmen.

En oväntad effekt vid urinuppsamlingen var de stora årsvisa skillnaderna mellan foderstaterna i daglig urinvärd, med 26 kg för käringtand och 30 kg för vitklöver År 1, men 23 kg för käringtand och 19 kg för vitklöver År 2. Effekten kunde dock helt förklaras av årsvisa skillnader i kaliuminnehåll (Nennich m.fl., 2006; Eriksson, 2011), där korrelationen mellan kaliumintag och urinvärd var 0,99 för de fyra årsmedelvärdena (2 år × 2 foderstater).



Figur 5. Kväveomsättning hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Foderstaten utgjordes till 33 % av kraftfoder. ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$.

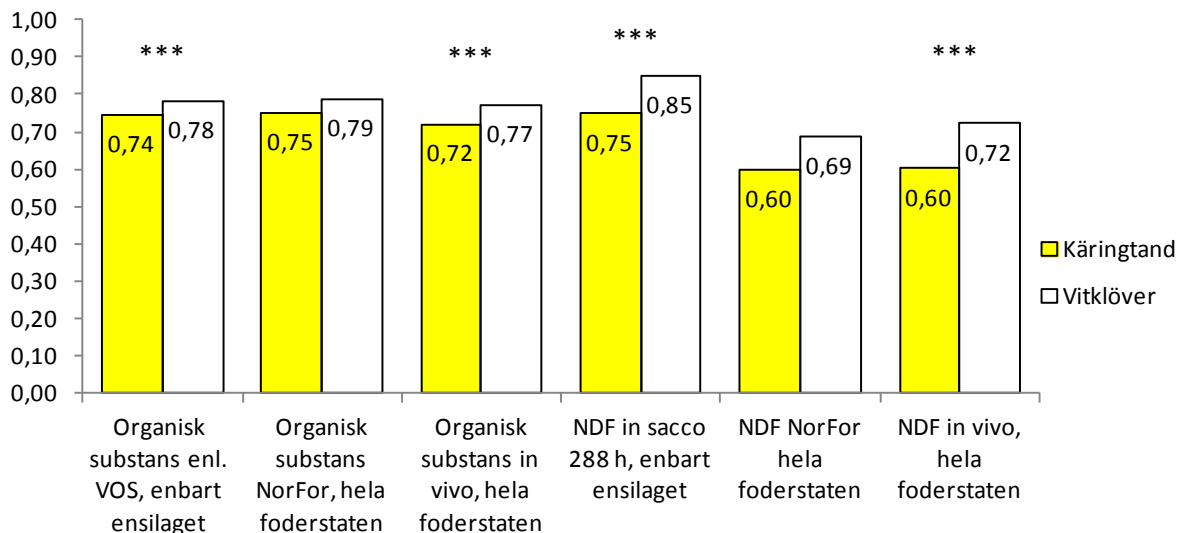


Figur 6. Fördelning av intaget kväve (råprotein) hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Foderstaten utgjordes till 33 % av kraftfoder. Resultaten är från de 8 kor där urinuppsamling och träckprovtagning gjordes. ***, $p < 0,001$; *, $p < 0,05$

Smältbarhet och våmomsättning

Den lägre smältbarheten hos käringtand (figur 7) borde i vissa situationer kunna försämra energiförsörjningen, såvida inte djuret förmår kompensera med ett större intag, vilket förutsätter en höjd passagehastighet. Höga halter av kondenserade tanniner kan snarare ha minskat

foderintag som följd genom att uppehållstiden i våmmen blir längre (Waghorn, 2008). Resultaten från dessa försök tyder dock inte på sådana effekter. Med käringtandfoderstaten var våmpoolen av NDF drygt 500 g större än med vitklöverfoderstaten, men mängden NDF i träcken var samtidigt 700 g större per dag. De mätningar av passagehastigheten som gjordes från våmtömningarna År 2 visade inte på skilda passagehastigheter för de båda ensilageslagen ($p = 0,16$) och simulering i NorFor gav också samma passagehastighet för både vitklöver och käringtand. Det faktum att foderstatsskillnaderna i smältbarhet av organisk substans *in vitro* och *in vivo* var likartade styrker också att passagehastigheten ur våmmen var densamma. I annat fall skulle mindre andel organisk substans hinna smältas *in vivo* när passagehastigheten ökar. Tidigare försök med direktutfodring av grönmassa (Nilsson-Linde m.fl., 2004) eller betande djur (Molle m.fl., 2008) har inte gett intagskillnader mellan käringtand och vitklöver. Det finns också resultat som tyder på att käringtand har en bra intagspotential i förhållande till andra vallväxter. Från fårförsök skattade Paul m.fl. (2002) den relativa intagspotentialen till 122 för käringtand och 116 för rödklöver, lusern samt getärt om engelskt rajgräs sattes till 100.



Figur 7. Smältbarhet hos blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver. Bestämningar med laboriemetoder på ensilaget. NorFor-simulering och *in vivo*-mätningar på mjölkornas hela foderstat inklusive 33 % kraftfoder. ***, $p < 0,001$. NorFor-simuleringarna är gjorda för behandlingsmedelvärden och eventuella signifikanser framgår inte.

Slutsatser

Stallutfodring med käringtand till mjölkkor i Sverige måste till stor del ske i form av blandensilage i en foderstat tillsammans med kraftfoder. Odlingsklimatet och uppblandningen med andra fodermedel gör att foderstatens innehåll av kondenserade tanniner då blir så lågt att bara begränsade effekter borde kunna förväntas. I de här genomförda utfodringsförsöken fanns ändå en rad indikationer på att resultatet verkligen påverkades av ensilagens innehåll av kondenserade tanniner, med en tydlig skillnad mot en vitklöverfoderstat med likvärdig råprotein- och fiberhalt. Käringtandfoderstaten hade tendens till ca 1 kg större mjölkavkastning per dygn, och både halt och mängd av mjölkprotein ökade. Smältbarhet av fiber och organisk substans minskade med käringtand och var i nivå med skillnaden i VOS-resultat mellan foderstaterna och den minskade produktionen i våmmen av flyktiga fettsyror – VFA. Att käringtand trots det gav en viss avkastningsökning beror sannolikt på att protein- och inte energiförsörjningen

begränsade produktionen i försöken, så att den något större mängden icke våmnedbrutet foderprotein kunde ge utslag. I en energibegränsad foderstat är det möjligt att käringtandens lägre smältbarhet inte ger någon positiv respons jämfört med vitklöver.

Resultatförmedling

Artikel i refereegranskad tidskrift

Eriksson, T., Norell, L. & Nilsson-Linde, N. 2012. Nitrogen metabolism and milk production in dairy cows fed semi-restricted amounts of ryegrass-legume silage with birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) or white clover (*Trifolium repens* L.). *Grass and Forage Science* vol. 67: 546-558. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00882.x>

Övrig publicering

Preliminära generella resultat har presenterats på konferensen "Mat i nytt klimat" 19–21 november 2007 i Norrköping, på EGF-konferensen 9–12 juni 2008 i Uppsala och i Svenska Vallbrev 2008:7. Dessutom har specifika resultat för urinparametrar och mjölkurea presenterats tillsammans med data från andra försök på The 2nd Nordic Feed Science Conference, 15–16 juni 2011 i Uppsala och på EAAP 63rd congress, 27–31 augusti 2012 i Bratislava.

Tack

Varmt tack till personalen på Hushållningssällskapet Sjuhärad som odlat och ensilerat vallgrödorna. Förtjänstfulla insatser från Camilla Andersson, Håkan Wallin, Gunilla Helmersson, Märta Blomqvist, vår gäststudent Marc Chereau och många andra i djurstallar och laboratorium gjorde att utfodringsförsöken kunde genomföras.

Referenser

- ANDERSSON R. & HEDLUND B. (1983) HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **176**, 440–443.
- ANTONIEWICZ A.M., HEINEMANN W.W. and HANKS E.M. (1981) *Effect of level of feed intake and body mass on allantoin excretion and the allantoin to creatinine ratio in the urine of sheep*. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, **8**, 49–65.
- AXELSON J. (1941) Der Gehalt des Futters an umsetzbarer Energie. *Züchtungskunde*, **16**, 337–347.
- BRODERICK G.A. & KANG J.H. (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, **63**, 64–75.
- BUSSINK D.W. & OENEMA O. (1998) Ammonia volatilization from dairy farming systems in temperate areas: a review. *Nutrient Cycling In Agroecosystems*, **51**, 19–33.
- CHAI W. & UDEN P. (1998) An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre. *Animal Feed Science and Technology*, **74**, 281–288.
- ERIKSSON T. (2011) Urine excretion relative to K intake in Swedish Red cattle. I: UDÉN P., ERIKSSON T., MÜLLER C. & SPÖRNDLY R. (red.) *Proceedings of the 2th Nordic Feed Science Conference. June 15–16, 2011*. SLU. Inst. för husdjurens utfodring och vård. *Rapport*, **277**, 15–19.
- HAGERMAN A.E. (1987) Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology*, **13**, 437–449.
- HALLING M.A. (2008) *Vallväxter till slåtter och bete samt grönfoderväxter. Sortval för södra och mellersta Sverige 2008/2009*. SLU. Inst. för växtproduktionsekologi. Uppsala. 67 s. http://www.ffe.slu.se/FFE/Info/sortval_2008-2009.pdf
- HEDQVIST H., MUELLER-HARVEY I., REED J.D., KRUEGER C.G. & MURPHY M. (2000) Characterisation of tannins and *in vitro* protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties. *Animal Feed Science and Technology*, **87**, 41–56.
- HEDQVIST H. (2004) *Metabolism of soluble proteins by rumen microorganisms and the influence of condensed tannins on nitrogen solubility and degradation*. SLU. Inst. för husdjurens utfodring och vård. Agraria 501. Avhandling. 40 s.
- HEDQVIST H. & UDEN P. (2006) Measurement of soluble protein degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, **126**, 1–21.
- HUHTANEN P., NOUSIAINEN J.I., RINNE M., KYTÖLÄ K. & KHALILI H. (2008) Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, **91**, 3589–3599.

- JAAKKOLA S., RINNE M., HEIKKILÄ T., TOIVONEN V. & HUHTANEN P. (2006) Effects of restriction of silage fermentation with formic acid on milk production. *Agricultural and Food Science*, **15**, 200–218.
- JENNISCHE P. & LARSSON K. (1990) Traditionella svenska analysmetoder för foder och växtmaterial. Statens lantbrukskemiska laboratorium. Rapport **60**. Uppsala, 1–16.
- JONES W.T. & MANGAN J.L. (1977) Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **28**, 126–136.
- KRIZSAN S.J., AHVENJÄRVI S. & HUHTANEN P. (2010) A meta-analysis of passage rate estimated by rumen evacuation with cattle and evaluation of passage rate prediction models. *Journal of Dairy Science*, **93**, 5890–5901.
- LARSSON K. & BENGTSSON S. (1983) Bestämning av lätt tillgängliga kolhydrater i växtmaterial. Statens lantbrukskemiska laboratorium. Rapport **22**. Uppsala, 1–10.
- LINDBERG J.E. & JANSSON C. (1989) A rapid automated analysis of allantoin in ruminant urine. *Swed. J. Agric. Res.*, **19**, 163–167.
- LINDGREN E. (1979) *Vallfodrets näringsvärde bestämt in vivo och med olika laboratoriemetoder*. SLU. Inst. för husdjurens utfodring och vård. Rapport, **45**. Uppsala, 1–66.
- LORENZ M.M., ERIKSSON T. & UDÉN P. (2010) Effect of wilting, silage additive, PEG treatment and tannin content on the distribution of N between different fractions after ensiling of three different sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) varieties. *Grass and Forage Science*, **65**, 175–184.
- MACADAM J.W., GRIGGS T.C., BEUSELINCK P.R., & GRABBER J.H. (2006) *Birdsfoot trefoil, a valuable tannin-containing legume for mixed pastures*. Online. Forage and Grazinglands doi:10.1094/FG-2006-0912-01-RV.
- MADSEN J. (1985) The basis for the proposed Nordic Protein Evaluation System for Ruminants. The AAT-PBV system [amino acids absorbable in the small intestine, protein balance in the rumen]. *Acta Agric. Scand.* (Suppl. **25**), 9–20.
- MERTENS D.R. (2002) Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*, **85**, 1217–1240.
- MOLLE G., DECANDIA M., SOLTER U., GREEF J.M., ROCHON J. J., SITZIA M., HOPKINS A. and ROOK A.J. (2008) *The effect of different legume-based swards on intake and performance of grazing ruminants under mediterranean and cool temperate conditions*. *Grass and Forage Science*, **63**, 513–530.
- MUELLER-HARVEY I. (2006) Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**, 2010–2037.

- NENNICH T.D., HARRISON J.H., VANWIERINGEN L.M., ST-PIERRE N.R., KINCAID R.L., WATTIAUX M.A., DAVIDSON D.L. & BLOCK E. (2006) Prediction and evaluation of urine and urinary nitrogen and mineral excretion from dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, **89**, 353–364.
- NILSDOTTER-LINDE N. (1999) Birdsfoot trefoil grown in mixtures with grasses in a temperate climate. I: FOUGELMAN, D. & LOCKERETZ, W. (red.) *Organic agriculture the credible solution for the XXIst century. Proceedings of the 12th international IFOAM scientific conference. 15–19 November 1998. Mar del Plata. Argentina.* 171–175.
- NILSDOTTER-LINDE N., OLSSON I., HEDQVIST H., JANSSON J., DANIELSSON G. & CHRISTENSSON D. (2004) Performance of heifers offered herbage with birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) or white clover (*Trifolium repens* L.). *Grassland Science in Europe*, **9**, 1062–1064.
- ORR, R.J., COOK, J.E., CHAMPION, R.A., PENNING, P.D. & ROOK, A.J. (2003) Intake characteristics of perennial ryegrass varieties when grazed by sheep under continuous stocking management. *Euphytica*, **134**, 247–260.
- PAUL C., AUERBACH H. & SCHILD G.-J. (2002) Intake of legume silages by sheep. In: WILKINS R. and PAUL C (eds) *Legume Silages for Animal Production – LEGSIL. Proceedings of an International Workshop, Braunschweig 8–9 July 2001. FAL. Landbauforschung Voelkenrode, Special Issue 234*, 33–38.
- RAMSING A., RUZICKA J. & HANSEN E.H. (1980) A new approach to enzymatic assay based on flow-injection spectrophotometry with acid-base indicators. *Analytica Chimica Acta*, **114**, 165–181.
- SALAWU M.B., ACAMOVIC T., STEWART C.S., HVELPLUND T. & WEISBJERG M.R. (1999) The use of tannins as silage additives: Effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. *Animal Feed Science and Technology*, **82**, 243–259.
- SCHARENBERG A., ARRIGO Y., GUTZWILLER A., SOLIVA C.R., WYSS U., KREUZER M. & DOHME F. (2007) Palatability in sheep and *in vitro* nutritional value of dried and ensiled sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*), and chicory (*Cichorium intybus*). *Archives of Animal Nutrition*, **61**, 481–496.
- SPANGHERO M. & KOWALSKI Z.M. (1997) Critical analysis of N balance experiments with lactating cows. *Livestock Production Science*, **52**, 113–122.
- SPÖRNDLY R. (2003) *Fodertabeller för idisslare*. SLU. Inst. för husdjurens utfodring och vård. Rapport, **257**.
- SULLIVAN M.L. & HATFIELD R.D. (2006) Polyphenol oxidase and o-diphenols inhibit postharvest proteolysis in red clover and alfalfa. *Crop Science*, **46**, 662–670.
- TECHNICON. 1974a. *Technicon method No. SE40001FD4*. Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, NY.

- TECHNICON. 1974b. *Technicon method No. SE4-0011FH4*. Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, NY.
- TERRILL T., ROWAN A., DOUGLAS G. & BARRY T. (1992) Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J Sci Food Agric*, **58**, 321–329.
- VAN KEULEN J. & YOUNG B.A. (1977) Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, **4**, 282–287.
- WAGHORN G. (2008) Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production – progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, **147**, 116–139.
- VOLDEN, H. (red.) (2011) *NorFor – The Nordic feed evaluation system*. EAAP publication No. 130. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp 41-54.
- ÅKERLIND M., WEISBJERG M., ERIKSSON T., THØGERSEN R., UDÉN P., ÓLAFSSON B.L., HARSTAD O.M & VOLDEN H. (2011) Feed analyses and digestion methods. In: VOLDEN H. (red) *NorFor – The Nordic feed evaluation system*. EAAP publication No. 130. Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands, 41–54.

Metodik för statistisk bearbetning

Resultaten från båda försöksåren analyserades tillsammans som ett experiment med procedur MIXED i SAS, version 9.2. Analysen gjordes på tre nivåer, intag och produktionsdata från alla kor (76 observationer), smältbarhet och kvävebalans från 8 kor (48 observationer) samt våmstudier på 4 kor (22 observationer). Den största modell som testades för varje variabel hade de fixa effekterna FISTULERAD (F, ja eller nej); KALVNINGNUMMER (K, förstakalvare eller äldreko); ÅR (Å, 1 eller 2); ENSILAGESLAG (E, karingtand- eller vitklöverblandning) och som kovariat LAKTATIONSDAG vid försöksstart (L). För datasetet med 76 observationer ingick dessutom alla tvåvägssamspel och 7 av de 10 möjliga trevägssamspelet. För datasetet med 48 observationer ingick 9 av 10 möjliga tvåvägssamspel och 5 av 10 möjliga trevägssamspel. I datasetet med 22 observationer var alla kor fistulerade och faktorn F bortföll därmed. Samspelet begränsades till 4 av 6 möjliga tvåvägssamspel och ett enda trevägssamspel: KALVNINGNUMMER \times PERIOD \times ENSILAGESLAG. Generellt fick i modellerna ingå alla samspel med ENSILAGESLAG och samspel som inte var sammanblandade med andra effekter i modellen och där dessutom alla kombinationer fanns representerade. Slumpeffekter var KO och KO \times ÅR.

Modellen testades i separata steg för trevägssamspel, tvåvägssamspel och för huvudeffekter, alltid tillsammans med slumpfaktorerna. I varje steg tillämpades Holms (1979) metod för sekventiell förkastning av icke-signifikanta faktorer. Det innebär att det lägsta p-värdet som förekommer för någon fix effekt (enskild faktor eller samspel) i steget multipliceras med antalet variabler som ingår. Blir produkten lägre än vald signifikansnivå, i detta fall 0,05, fortsätter proceduren med nästa effekt för att kunna avgöra vilka effekter som får vara kvar till nästa steg. Eftersom ensilageslagen var de försöksbehandlingar som skulle jämföras fick de alltid vara kvar vid beräkningen av LS Means. Eftereffekter av ensilageslag testades med kontrasten Period 3 \times Ensilage 2 - Period 1 \times Ensilage 2 - Period 3 \times Ensilage 1 + Period 1 \times Ensilage 1. Slumpeffekterna KO och KO \times ÅR samt residualerna kontrollerades beträffande normalfördelning. Cellhalterna logaritmerades före analys för att få normalfördelning. Least square means återtransformerades sedan och icke-lineariteten i transformeringen korrigerades genom att addera halva variansen för KO.

Tidsseriedata för våmmätningar analyserades med samma modell som ovan med tillägg för tidseffekter, sedan det visat sig att inga samspel fanns mellan tidseffekter och andra effekter. En autoregressiv variansstruktur antogs. Våm-pH över dygnet modellerades med två kvadratiske funktioner och NH₃-N i våmmen modellerades med tre kvadratiske funktioner med maximum två timmar efter varje ensilageutfodring. Logaritmerade värden för α -amino-N modellerades på liknande sätt men med maximum en timme efter varje utfodringstillfälle och en långsammare återgång till baslinjen än för NH₃-N.

Referens statistisk metodik

HOLM S. (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, **6**, 65–70.

Resultattabeller

Tabell 1. Kemisk sammansättning hos blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver utfodrat till mjölkkor vid försök på Kungsängen. I tabellen visas också sammansättningen hos den kraftfoderblandning (År 1) och det korn (År 2) som kompletterade ensilaget. Medelvärde och standardavvikelse för 3 bestämmingar

	Käringtand År 1	Vitklöver År 1	Kraftfoder År 1	Käringtand År 2	Vitklöver År 2	Korn År 2
Ts, g/kg	484 (12)	435 (23)	905 (12)	462 (24)	548 (46)	872 (1)
Kemisk sammansättning, g/kg ts						
Aska	85 (2)	96 (1)	63 (0)	90 (4)	88 (12)	23 (0)
Råprotein	161 (3)	162 (2)	152 (2)	167 (6)	155 (2)	123 (1)
NDF	410 (8)	401 (5)	154 (4)	358 (3)	374 (4)	132 (10)
Växtråd	-	-	61 (3)	-	-	46 (4)
Råfett	-	-	51 (0)	-	-	28 (0)
Socker (som WSC)	35 (1)	34 (4)	32 (2)	89 (23)	118 (10)	26 (6)
Stärkelse	-	-	429 (9)	-	-	615 (5)
Mineraler						
Ca	7,9 (0,2)	8,3 (0,6)	8,7 (0,2)	9,2 (0,8)	8,0 (0,6)	0,4 (0,1)
P	3,8 (0,1)	4,3 (0,1)	4,7 (0,1)	3,4 (0,2)	3,2 (0,2)	3,6 (0,3)
Mg	1,9 (0,1)	1,8 (0,1)	5,0 (0,2)	2,1 (0,1)	1,8 (0,1)	1,1 (0,1)
K	27,4 (0,9)	33,7 (0,9)	6,5 (0,2)	25,7 (2,0)	21,4 (0,3)	4,8 (0,3)
Na	1,6 (0,1)	1,1 (0,0)	2,7 (0,1)	1,5 (0,2)	1,1 (0,2)	0,1 (0,0)
S	2,3 (0,0)	2,6 (0,1)	2,0 (0,2)	2,7 (0,1)	2,1 (0,2)	1,3 (0,1)

Tabell 2. Kvävefraktionering, nedbrytningskaraktistik och beräknat näringsvärde hos blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver utfodrat till mjölkkor vid försök på Kungsängen. I tabellen visas också värden för den kraftfoderblandning (År 1) och det korn (År 2) som kompletterade ensilaget. Medelvärde och standardavvikelse för 3 bestämmingar

	Käringtand År 1	Vitklöver År 1	Kraftfoder År 1	Käringtand År 2	Vitklöver År 2	Korn År 2
N-fraktionering, g/kg N						
Buffertlösligt N	527 (16)	617 (13)	385 (17)	485 (40)	531 (47)	237 (1)
TCA-fällbart N	6 (14)	26 (10)	279 (19)	33 (8)	31 (13)	151 (6)
α -amino-N	228 (34)	276 (12)	-	173 (23)	185 (33)	-
NH ₃ -N	44 (5)	56 (7)	-	55 (9)	66 (10)	-
Nedbrytningskaraktistik ¹						
Pot smb N, g/kg N	381	338	-	451	406	-
kD pot smb N g/kg N/h	82	79	-	65	71	-
Pot smb NDF, g/kg NDF	740 (11)	856 (2)	756	757 (17)	842 (15)	662
kD NDF g/kg NDF/h	39	46	-	38	45	-
OMD, g/kg OM ²	743 (6)	788 (6)	-	746 (10)	775 (4)	-
OMDPEG, g/kg OM ³	754 (13)	790 (3)	-	748 (14)	774 (8)	-
Beräknat näringsvärde ⁴						
MJ oms energi/kg ts	10,0 (0,0)	10,4 (0,1)	13,2 (0,0)	10,1 (0,2)	10,3 (0,3)	13,7 (0,1)
AAT, g/kg ts	75 (0)	71 (0)	86 (0)	79 (0)	76 (1)	93 (1)
PBV, g/kg ts	29 (2)	39 (2)	8 (2)	29 (6)	23 (2)	-34 (1)

¹ Nedbrytningskaraktistik bestämd med metodik enligt NorFor (Åkerlind m.fl., 2011).

² OMD = beräknad *in vivo*-smältbarhet för organisk substans från VOS-analys enligt Lindgren (1979).

³ Som ovan men med tillsats av polyetylenglykol (PEG) som inhiberar tannineffekten vid VOS-analysen.

⁴ Enligt Spörndly (2003).

Tabell 3. Fermentationsprodukter, pH och tanninfördelning i blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver utfodrat till mjölkkor vid försök på Kungsängen. Medelvärde och standardavvikelse för 3 bestämningar

	Käringtand År 1	Vitklöver År 1	Käringtand År 2	Vitklöver År 2
Produkt, g/kg ts				
Succinat	3,6 (0,6)	5,0 (0,6)	3,8 (0,1)	3,4 (0,6)
Laktat	53,5 (9,7)	72,1 (5,4)	25,9 (7,4)	35,7 (16,9)
Acetat	6,1 (1,2)	9,5 (1,8)	5,6 (1,6)	4,8 (1,4)
Propionat	<0,8	<0,8	<0,6	<0,6
2,3 butan-diol	0,7 (0,07)	1,1 (0,32)	1,2 (0,33)	1,0 (0,34)
Etanol	2,4 (0,6)	3,3 (0,2)	4,4 (2,8)	4,1 (1,6)
Butyrat	<0,4	0,9 (0,75)	0,3 (0,00)	0,4 (0,15)
pH	4,5 (0,08)	4,4 (0,04)	5,0 (0,14)	4,8 (0,28)
Tanninfraktioner, andelar av totalmängd				
Lösliga tanniner	0,51 (0,01)	-	0,40 (0,05)	-
Proteinbundna tanniner	0,34 (0,03)	-	0,39 (0,05)	-
Fiberbundna tanniner	0,16 (0,03)	-	0,22 (0,05)	-

Tabell 4. Intag och rester av foder hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver i försök upprepade under två stallsäsonger vid Kungsängen. LS Means = Minsta kvadratmedelvärden för ensilageslaget med alla signifikanta huvudeffekter och samspel (Å = År, P = Period, K = Kalvningsnummer (förstakalvare eller äldreko), E = Ensilageslag) N = 76

	Medelvärden (LS Means) och P för ensilageslag			P-värden övriga huvudeffekter					Ingående samspel
	Käring- tand	Vitklöver	P	År	Period	Kalvnings nummer	Lakta- tions- dag	Efter- effekt	
kg total-ts	20,4	20,4	0,983	0,776	0,086	0,094	0,805	0,023	ÅP:0,002
kg ts ensilage	13,37	13,43	0,632	0,007	0,685	0,001	0,645	0,038	ÅP:<0,001
kg ts kraftfoder	6,67	6,61	0,447	<0,001	0,093	0,069	0,449	0,737	
kg ts ensilagerest ¹	0,46	0,62	0,181	0,186	0,061	0,185	0,463	0,528	KPE:<0,001
kg ts kraftfoderrest ¹	0,16	0,20	0,587	0,071	0,521	0,723	0,830	0,735	
Organisk substans, kg	18,9	18,8	0,597	0,827	0,385	0,092	0,791	0,030	ÅP:<0,001
NDF, g	6081	6132	0,276	0,007	0,761	0,002	0,845	0,025	ÅE:<0,001
Totalt råprotein, g	3106	3032	<0,001	0,015	<0,001	0,003	0,506	0,854	ÅE:<0,001
Buffertlösligt råprotein, g	1414	1515	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,604	0,755	ÅE:<0,001
Lösligt äkta protein, g	260	276	0,001	<0,001	<0,001	0,025	0,425	<0,001	ÅP; ÅE; PE; ÅPE:<0,001
Socket (WSC), g	1066	1242	<0,001	<0,001	<0,001	0,031	0,909	<0,001	ÅP; ÅE; PE; ÅPE:0,007
Stärkelse, g	3308	3269	0,437	0,193	0,026	0,098	0,521	0,695	
MJ oms energi	222	227	0,001	0,258	0,859	0,004	0,476	0,076	ÅP:<0,001
AAT, g	1653	1605	<0,001	0,275	0,292	0,089	0,771	0,078	ÅP:0,002
PBV, g	336	357	0,015	<0,001	<0,001	0,019	0,26	<0,001	ÅE:<0,001; PE:<0,001

¹ Redovisas som mått på acceptans för fodren. I alla intagssiffor är resterna redan bortdragna.

Tabell 5. Produktion och mjölksammansättning hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver i försök upprepade under två stallsäsonger vid Kungsängen. LS Means = Minsta kvadratmedelvärden för ensilageslaget med alla signifikanta huvudeffekter och samspel (Å = År, P = Period, K= Kalvningsnummer (förstakalvare eller äldreko), E = Ensilageslag) N = 76

	Medelvärden (LS Means) och P för ensilageslag			P-värden övriga huvudeffekter					Ingående samspel
	Käring- tand	Vitklöver	P	År	Period	Kalvnings- nummer	Laktati- onsdag	Efter- effekt	
Mjölk, kg/d	26,1	25,3	0,059	0,010	<0,001	0,001	0,013	0,013	
ECM, kg/d	27,7	26,4	0,206	0,043	<0,001	0,010	0,028	0,004	PE:0,018
Protein, g/kg	34,0	33,5	0,003	0,214	<0,001	0,157	0,096	0,357	
Fett, g/kg	43,3	43,9	0,274	0,003	<0,001	0,367	0,890	0,076	
Laktos, g/kg	46,1	46,4	0,009	0,351	0,027	0,956	0,858	0,553	ÅP:<0,001
Cellhalt, 1000/ml	79,8	65,5	0,243	0,973	0,010	0,348	0,754	0,502	
g mjölkfett/d	1105	1092	0,563	0,021	0,009	0,013	0,002	0,004	
g laktos/d	1193	1169	0,191	0,021	<0,001	0,004	0,016	0,020	
g mjölkprotein/d	892	856	0,002	0,053	<0,001	0,036	0,190	0,233	
Mjölk-N:Foder-N	0,284	0,277	0,084	0,345	<0,001	0,657	0,206	0,317	KP; KE; PE; KPE:0,002
Mjölkurea mM	4,53	4,10	<0,001	0,012	0,024	0,276	0,083	0,852	

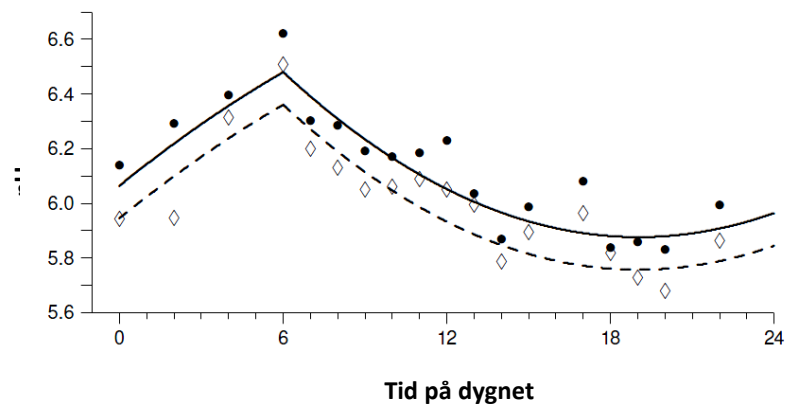
Tabell 6. Smältbarhet av foder och kväveomsättning hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs tillsammans med antingen käringtand eller vitklöver i försök upprepade under två stallsäsonger vid Kungsängen. LS Means = Minsta kvadratmedelvärden för ensilageslaget med alla signifikanta huvudeffekter och samspel (Å = År, P = Period, K = Kalvningsnummer (förstakalvare eller äldreko), E = Ensilageslag) N = 48

	Medelvärden (LS Means) och P för ensilageslag			P-värden övriga huvudeffekter					
	Käring- tand	Vitklöver	P	År	Period	Kalvnings nummer	Laktati- onsdag	Efter- effekt	Ingående samspel
Smältbarhet									
Torrsubstans	0,705	0,755	<0,001	0,050	0,042	0,290	0,978	0,784	
Organisk substans	0,720	0,772	<0,001	0,029	0,083	0,300	0,980	0,875	
NDF	0,602	0,722	<0,001	0,020	0,389	0,296	0,703	0,847	
Pot. smb NDF	0,812	0,868	<0,001	0,002	0,020	0,335	0,750	0,903	
Kvävebalans									
N-intag, g/d	505	492	0,019	0,115	0,063	0,302	0,330	0,806	
Mjolk-N, andel	0,285	0,280	0,233	0,704	<0,001	0,748	0,539	0,053	
Urin-N, andel	0,298	0,283	0,034	0,113	0,023	0,718	0,473	0,388	
Träck-N, andel	0,328	0,304	0,001	<0,001	0,056	0,951	0,853	0,373	
Balans	0,088	0,133	<0,001	0,003	0,017	0,758	0,163	0,316	
Urinkvävefraktioner									
Kjeldahl- N, g/d	151	140	0,008	0,004	0,005	0,278	0,870	0,343	
Urea-N, g/d	102	90	0,002	0,049	0,213	0,358	0,899	0,071	
Allantoin-N, g/d	16,7	15,9	0,162	0,727	0,951	0,736	0,746	0,723	ÅP:0,002
Kreatinin-N, g/d	5,68	5,59	0,419	0,794	0,678	0,604	0,380	0,380	
Urinmängd, kg/d	23,3	23,0	0,590	0,335	0,015	0,629	0,605	0,287	ÅE:<0,001

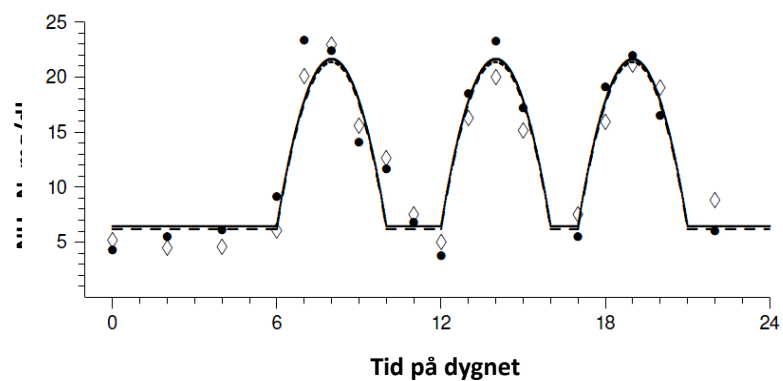
Tabell 7. Totalinnehåll och koncentrationer i våmmen hos mjölkkor utfodrade med blandensilage av engelskt rajgräs och antingen käringtand eller vitklöver i försök upprepade under två stallsäsonger vid Kungsängen. LS Means = Minsta kvadratmedelvärden för ensilageslaget med alla signifikanta huvudeffekter. N = 22

	Medelvärden (LS Means) och P för ensilageslag			P-värden övriga huvudeffekter				
	Käring- tand	Vitklöver	P	År	Period	Kalvnings nummer	Lakta- tionsdag	Efter- effekt
Våminnehåll								
Färskvikt, kg	97,6	99,2	0,529	0,040	0,150	0,227	0,384	0,611
Ts, kg	12,1	12,0	0,653	0,002	0,073	0,171	0,168	0,17
Org. subst., kg	11,0	10,8	0,435	0,002	0,084	0,188	0,173	0,16
NDF, g	5818	5277	0,017	0,018	0,278	0,130	0,153	0,151
Råprotein, g	2139	2271	0,048	<0,001	0,097	0,108	0,176	0,43
Total-VFA, mM	136	143	0,009	0,721	0,007	0,235	0,700	0,949
Mol-proportioner av VFA								
Acetat	0,662	0,650	0,003	0,308	0,290	0,372	0,931	0,656
Propionat	0,190	0,200	0,018	0,964	0,557	0,097	0,692	0,666
Butyrat	0,107	0,111	0,014	0,160	0,305	0,045	0,455	0,971
Valerat	0,015	0,016	0,362	0,164	0,411	0,769	0,834	0,061
Iso-syror	0,022	0,021	0,189	0,147	0,241	0,189	0,661	0,853
Övriga våmp parametrar								
NH ₃ -N, mg/dl	12,80	12,53	0,666	0,405	0,056	0,486	0,783	0,194
α-amino-N, mg/dl	2,91	3,04	0,296	0,894	0,225	0,765	0,963	0,803
pH	6,10	5,98	0,012	0,490	0,513	0,803	0,191	0,371

Resultatfigurer



Figur 1. Dygnsvariation för våm-pH hos mjölkkor utfodrade med blandensilage (13,4 kg ts/d) av engelskt rajgräs och antingen käringtand (●), heldragen linje, eller vitklöver (◇), streckad linje. Ensilage utfodrat 05:45, 12:00 och 17:00. Ensilaget kompletterades med kraftfoder (6,7 kg ts/d) som utfodrades 15 min efter varje ensilagegiva och med en extragiva 09:00. Varje punkt är medelvärdet (LS means) av 11 observationer. Linjerna är kurvanpassningar enligt en segmenterad kvadratisk funktion med brytpunkt vid morgonutfodringen 06:00 och minimum 19:00.



Figur 2. Dygnsvariation för NH₃-N hos mjölkcor utfodrade med blandensilage (13,4 kg ts/d) av engelskt rajgräs och antingen käringtand (●), heldragen linje, eller vitklöver (◇), streckad linje. Ensilage utfodrat 05:45, 12:00 och 17:00. Ensilaget kompletterades med kraftfoder (6,7 kg ts/d) som utfodrades 15 min efter varje ensilagegiva och med en extragiva 09:00. Varje punkt är medelvärdet (LS means) av 11 observationer. Linjerna är kurvanpassningar med parabler som når maximum 2 timmar efter varje utfodring.