



Vitaminförsörjning till mjölkkor i ekologisk produktion

Delprojekt: Vitamin D

Vitamine status of dairy cows in organic production
Subproject: Vitamin D

Petra Norén



Foto: Petra Norén

Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Avdelningen för produktionssystem

Skara 2008

Studentarbete 215

Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Environment and Health
Section of Production Systems

Student report 215

ISSN 1652-280X

Vitaminförsörjning till mjölkkor i ekologisk produktion
Delprojekt: Vitamin D

Vitamine status of dairy cows in organic production
Subproject: Vitamin D

Petra Norén

Examensarbete, 30 ECTS, Agronomprogrammet

Handledare: Birgitta Johansson, Inst. för husdjurens miljö och hälsa
(Dept. of Animal Environment and Health)

Box 234

532 23 SKARA

Biträdande handledare: Lone Hymøller, Dept of Animal Health, Welfare and Nutrition
University of Aarhus, Faculty of Agricultural Science

P.O Box 50

DK 8830 TJELE

Förord

Det här examensarbetet är del två i ett tvåårigt forskningsprojekt som heter ”Vitaminförsörjning till mjölkkor i ekologisk produktion”. Forskningsprojektet har två delprojekt.

Delprojekt 1: Försörjning av vitamin A och E till mjölkkor utan tillsats av syntetiska vitaminer i 100 % i ekologisk foderstat.

Delprojekt 2: D-vitaminstatus och D-vitaminförsörjning.

Vitamin D har många fysiologiska funktioner hos mjölkkor och det här examensarbetet omfattar funktionen av D-vitamin hos ekologiska mjölkkor. Funktionen av vitamin D har sammanställts i en litteraturstudie och D-vitamin innehållet i blod har analyserats fram. Resultatet har registrerats och en sammanställning har gjorts med avseende på laktationsstadier och årstidsvariationen under två år av vitamin-D koncentration i blod hos ekologiska mjölkkor med eller utan vitamintillskott i foderstaten.

Ansvariga för projektet är Inst. för husdjurens miljö och hälsa, SLU Skara, i samarbete med Institut for Husdyrsundhed, Velfærd og Ernæring, Danmarks jordbruksforskning, avdelningen för lantbrukets djur, SVA, och hushållningssällskapet Väst. Hushållningssällskapet Väst ansvarade praktiskt för försöket och tillhandahöll den ekologiska besättningen samt foder och byggnader.

Ett stort tack till min handledare Birgitta Johansson, SLU i Skara och min biträdande handledare Lone Hymøller som hjälpt mig genomföra detta examensarbete. Tack till Sören Krogh Jensen och Lone Hymøller som tagit väl hand om mig vid besöket på Danmarks jordbruksforskning, hjälpt mig utföra analyser och satt mig in i metodiken. Jag vill även tacka Lars Johansson och Erik Hedlund för besöket på Tingvalls gård. Tack till Elisabet Nadeau, Hanna Lindqvist och Karin Persson-Waller. Ett sista tack tillägnas Jordbruksverket som finansierat hela projektet.

Uppsala den 28 feb -09
Petra Norén

Sammanfattning

Det fanns från 2000 ett förbud i Sverige mot att tillföra syntetiskt framställda vitaminer till foderstaten för ekologiska idisslare enligt EU-förordning 1804/1999. Efter förbudet har en generell dispens varit gällande för att kunna tillgodose vitaminbehovet. Vitaminbrist och hälsa har ett starkt samband och det finns därför ett stort intresse av ytterligare forskning om behovet av vitaminer till idisslaren. Från den 1 januari 2006 är det tillåtet enligt ny lag att ge syntetiska vitaminer till ekologiska idisslare (SJVFS 2005:92).

En av de viktigaste vitaminerna för kor är vitamin D. Vitamin D har som huvudfunktion att reglera koncentrationen av kalcium i plasma som i sin tur är viktig för bl.a. benbildning, nervfunktion, muskelkontraktion och blodkoagulering. Brist på vitamin D kan leda till hypokalcemi och kalvningsförlamning. Rakitis är en bristsjukdom som ger låg tillväxthastighet och en karakteristisk deformation av benen.

Vitamin D är fettlöslig och de naturliga källorna är mycket känsliga för oxidation då de lagras. Även processning av fodermedel minskar vitamininnehållet. Det är således intressant i ett längre perspektiv att få veta funktion och behov av vitamin D hos ekologiska kor.

Kor kan få i sig vitamin D antingen via foder eller genom att huden utsätts för ultraviolett strålning. Kor som betar har högre halter vitamin D i mjölken än de som utfodras med vallensilage. Vi har i norra Europa en kortare betessäsong vilket gör att vitaminbehovet ökar hos kor. Den långa installningsperioden gör att korna inte kan tillgodogöra sig ljuset som behövs för att bilda vitamin D. Lantbrukarna har därför tillsatt syntetiska vitaminer i foderstaten, vilket tros vara nödvändigt för fortsatt produktion och bibehållen hälsa. Jag vill med denna studie se om det framkommer resultat som stödjer behovet av vitamin D tillskott i fodret till ekologiska idisslare för fortsatt produktion och bibehållen hälsa.

Försöket varade i två år där 20 mjölkkor i ekologisk produktion ingick båda åren samt delades in i två grupper. Alla kor i försöket hade tillgång till bete från maj till oktober år 1 och 2. En försöksgrupp (UV) som inte fick något vitamintillskott och en kontrollgrupp (MV) som fick vitamintillskott. Mjölkkavkastning och mjölksammansättning registrerades varannan vecka de 3 första laktationsmånaderna, därefter en gång i månaden. Alla kor fick lämna sex blodprov under sintid och vid olika perioder i laktationen. En verksam metabolit av vitamin D₃ är 25(OH)D₃. Analys gjordes av 25(OH)D₃ koncentrationen i blod för att se om det fanns skillnader mellan de båda grupperna. Hälsa och fruktsamhet registrerades och korna vägdes samt hullbestämdes varje månad. Allt foder analyserades för näringsinnehåll.

Vitamininnehållet i plasma samt mjölkproduktionen bearbetades statistiskt med variansanalys via SAS. Resultat med ett P -värde $<0,05$ betraktades som signifikant och med ett P -värde $0,05 < P < 0,10$ betraktades som tendens till signifikant.

Det fanns signifikanta skillnader ($P < 0,05$) med avseende på vitamin D koncentrationen i plasma 3 veckor efter kalvning år 1 mellan de kor som fick och de som inte fick vitamin D då MV-korna hade en högre koncentration än UV-korna. Denna effekt blev större 3-5 månader efter kalvning ($P < 0,01$) men minskade något i sen laktation (7-9 månader) efter kalvning men skillnaden mellan grupperna var fortfarande signifikant. År 2 fanns en signifikant skillnad med avseende på vitamin D koncentrationen i plasma mellan grupperna redan 3 veckor innan kalvning ($P < 0,05$) men vid kalvning fanns ingen skillnad. Vid 3 veckor och 3-5 månader efter kalvning fanns även där en signifikant skillnad (P

<0,01) mellan de kor som fick och de som inte fick tillskott av vitamin D. Även hälsan var bättre år 2 i gruppen MV än i UV-gruppen, frekvensen mastit var större år 2 i gruppen UV.

I kvartalet januari-mars har koncentrationen 25(OH)D₃ i plasma hos kor i UV-gruppen minskat till en tiondel av den koncentration de hade i kvartalet juli-september. I MV-gruppen var koncentrationen 25(OH)D₃ i plasma signifikant högre ($P < 0,01$) än i UV-gruppen i kvartalet januari-mars båda åren. MV-gruppen hade en 4 gånger högre koncentration än UV-gruppen år 1. MV-gruppen hade en 8 gånger högre koncentration än UV-gruppen år 2. Båda grupperna hade liknande relativt höga koncentrationer vid betet under sommaren (Hymøller, 2008).

Resultatet visar att kor i tidig laktation har lägre koncentration 25(OH)D₃ i plasma än kor i sen laktation. De flesta kor kalvade dock mellan november och februari vilket gjorde att tidig laktation sammanföll med innevistelseperioden. Skillnaden mellan grupperna under stallperioden kan alltså bero både på tidig laktation och på att korna inte utsätts för solljus. Under betesperioden vad de flesta kor i medel eller sen laktation. Den höga plasmakoncentrationen av 25(OH)D₃ under sommaren indikerar dock att endogen produktion av vitamin D via solljus är en mycket mer potent källa till att behålla höga plasmakoncentrationer jämfört med vitamin D tillskott via foder. Kor i ekologisk uppfödning på nordliga breddgrader behöver under installningsperioden tillskott av vitamin D₃.

Innehållsförteckning

Förord	3
Sammanfattning	4
Innehållsförteckning	6
Ordlista	8
1. Abstract	10
2. Inledning	12
3. Litteraturstudie	13
3.1 Vitaminer, Historia	13
3.2 Kemisk struktur	13
3.3 Nomenklatur	14
3.4 Kemiska egenskaper	14
3.5 Förekomst	15
3.5.1 Förekomst i växter	15
3.5.2 Förekomst i djur	15
3.5.3 Industriell produktion	15
3.6 Funktion	16
3.6.1 Hud	19
3.6.2 Väm	20
3.6.3 Tarm	20
3.6.4 Blod	22
3.6.5 Lever	22
3.6.6 Njure	22
3.6.7 Tyroidea	26
3.6.8 Skelett	27
3.6.9 Mjölk	28
3.6.10 Immunförsvar	29
3.7 Behov	29
3.8 Vitamin D, status och bristsymptom	30
3.8.1 Hypokalcemi	31
3.8.2 Kalvningsförflamning (Parturient paresis)	31
3.8.3 Rakitis (Engelska sjukan)	34
3.8.4 Toxikos	34
4. Material och metoder	35
4.1 Tingvall	35
4.2 Försöksplan	36
4.3 Foder	36
4.5 Övriga provtagningar	39

4.5.1 Blodprov	39
4.5.2 Mjölksprov	39
4.5.3 Hälsa, fruktsamhet, vikt och hull	40
4.6 Vitaminanalys	40
4.6.1 Teknisk utrustning	40
4.6.2 Blod	40
4.7 Statistik och övrig databehandling	41
5. Resultat	43
5.1 Vitamin D i blod	43
5.2 Mjölksproduktion	45
5.3 Hälsa och fruktsamhet	46
5.4 Vikt och hull	47
6. Diskussion	48
6.1 Värden i plasma	48
6.2 Hälsa och fruktsamhet	49
6.3 Mjölksproduktion	49
6.4 Andra vitamin D källor	50
6.5 Provhäntering och analysteknik	50
7. Slutsats	51
8. Litteraturlista	52

Ordlista

- Biologisk respons: Kroppens svar på ett stimuli
- Canaliculi: kanal
- Celldifferentiering: Process där celler med samma genetiska material blir olika.
- Cellproliferation: cell tillväxt
- C-myc oncogen: Protein som gynnar proliferation och celldöd.
- Defekation: avlämning av träck
- Hypo-: Lite
- Hypofosfatemi: Brist på fosfat
- Hyper-: Mycket
- Effektor: Cell eller vävnad som svarar på stimuli
- Efferent väg: utgående signal från integrerande center till en effektor
- Fagocytos: En cell omsluter t.ex. en mikroorganism med sitt membran och bryter ner den.
- IE=Internationella enheter=mg.
- Endogen:=Inuti, t.ex. inuti cellen.
- Endokrin körtel: En körtel eller cell som utsöndrar hormoner
- Enkel diffusion: molekyler passerar igenom cellmembranet till en lägre koncentration
- Enzym: proteinkatalysator som snabbar upp reaktioner
- Exogen: reaktion utanför organismen
- Extracellulär: område mellan celler
- Integrerande center: kontrollcenter som bestämmer rätt svar på inkommande signal
- Interleukin-2: utsöndras av t-celler som stimulerar proliferation och celldöd
- Intracellulär: inuti cellen
- In vivo: reaktion som framkallas i organism
- In vitro: reaktion som framkallas i t.ex. provrör
- Kylomikron: droppar av triglycerider, kolesterol, proteiner och lipoprotein
- Ligand: en molekyl som skickas från en cell eller vävnad och binder en receptor
- Maligna celler: skadliga celler
- Plasma: den del i blodet som är vätska
- Placenta: Moderkaka
- Proliferation: förökning genom celledelning
- Proteiner: molekyler sammansatta av aminosyror
- Steroider: hormon producerat av kolesterol
- CaBP: protein som binder kalcium
- 23+24 hydroxylase: enzym med två grupper som innehåller en syre- och väte-molekyl
- alkaline fosfatase: enzym som innehåller fosfor
- osteocalcin: hormon som verkar i benbildning
- Ca²⁺-ATPase: enzym
- Kollagen: flexibla men oelastiska fibrer i bindväv
- Radioisotop: en form av ett ämne som är radioaktivt
- Receptor: ett protein på/i cellmembran som binder en ligand
- Stimulus: en störning eller förändring som sätter en reflex i rörelse
- Systemsvar: Svar i kroppen på ett stimuli/signal
- Tetani: Ofrivilliga muskelkontraktioner
- Transkription: överföring av DNA-koder till mRNA
- Vitamin D: fettlösligt vitamin som finns i växter och djur, aktiveras av UVB-ljus
- D₂ ergocalciferol: den form av vitamin D som finns i växter
 - D₃ Cholecalciferol: den form av vitamin D som finns i djur
 - 1,25(OH)₂D₃: en metabolit av vitamin D bildad i njuren

- 25(OH)D₃: en metabolit av vitamin D bildad i levern
- Ergosterol: en steroid från svamp och jäst
- Kolesterol: en steroid som är bas för steroidhormoner
- 7-dehydrokolesterol: en form av kolesterol som finns i huden
- Calcitrol: annat namn för 1,25(OH)₂D₃
- Calcitonin: hormon som utsöndras från tyroidea, minskar kalciumnivån
- PTH: hormoner som utsöndras från paratyroidea körtlarna, ökar kalciumnivån

Vävnadssvar: Svar i en särskild vävnad på stimuli/signal, t.ex. lunga eller muskel (Horton *et al.*, 1996; Silverthorn *et al.*, 2002; Rang *et al.*, 2003)

1. Abstract

Between 2000 and 2006, it was not allowed according to EU-regulation 1804/1999 to give ruminants in organic production supply of synthetic produced vitamins in the diet. To fulfil the needs of vitamins to dairy cows in organic production a general exemption from the law was enforced. Vitamin D deficiency and health problems are strongly related and could result in hypocalcemia, milk fever and rickets. Therefore it is of great interest with more research about supplementation of vitamins to ruminants in organic production. From 1 January 2006 it is allowed to give synthetic vitamins to ruminants in organic production (SJVFS 2005:92).

One of the most important vitamins to dairy cattle is vitamin D. The main function of vitamin D is to regulate the concentration of calcium in the blood. Calcium is needed for bone metabolism, nerve function, muscle contraction and blood clotting.

Vitamin D is fat soluble and the natural sources are very sensitive to oxidation during storage. Processing of feed decreases the content of vitamins. It is of interest in a long perspective to find out more about vitamin D's function and the requirement of dairy cows to prevent diseases like milk fever and hypocalcaemia.

Cattle receive their vitamin D from the diet or from ultraviolet radiation through the skin. Cattle on pasture have higher concentration of vitamins in milk than cattle fed silage. In northern Europe the pasture season is shorter and the requirement of supplemented vitamins increases. During the long indoor period the cattle can not fulfil their vitamin requirements through ultraviolet radiation. Therefore the farmers add synthetic vitamins in diet for continuous production and preserved health.

This study remained for 2 years and 20 dairy cows in organic production where used which was sorted in two groups. One group (UV) was fed without added vitamin D in diet, and one group (MV) was fed with added vitamin D in diet (control group). Between May and October all cows had access to pasture. During the first three lactation months registrations on milk yield and milk composition were performed every second week and thereafter once a month. From every cow, 6 blood samples were collected before calving and during the lactation. 25(OH)D₃ is an active metabolite from vitamin D₃. Analyses were done to see if there were any differences in concentration of 25(OH)D₃ in blood between the two groups. The health and fertility were registered, body weight and the body condition score (BCS) where measured once every month. All fodder where analysed for nutritional content.

The vitamin content in blood and milk production was analysed statistically with variance analysis in SAS. Results with a *P*-value <0,05 was regarded as significant and a *P*-value 0,05<*P*<0,10 indicated a tendency to significance.

There was a significantly higher (*P* <0,05) concentration of vitamin D in plasma 3 weeks after calving year 1 in the group that received vitamin D in the diet and the group that did not receive vitamin D in diet. This effect increased 3-5 months after calving (*P* <0,010) but decreased in late lactation period (7-9 months) but there was still a significant difference. There was a significant difference (*P* <0,05) regarding concentration of vitamin D in plasma year 2 between the groups 3 weeks before calving but there was no difference at calving. Even 3 weeks and 3-5 months after calving there was a significant difference (*P* <0,01) between the two groups.

In the quarter January-February the 25(OH)D₃ concentration in plasma in the UV-group has decreased to a tenth of the concentration they had in the quarter July-September. The 25 (OH) D₃ concentrations in plasma in the MV-group were significantly higher than in the UV-group in the quarter January-March both years. The MV-group had a four times higher concentration than in the UV-group year 1. The MV-group had an eight times higher concentration than in the UV-group year 2. Both groups had similar relatively high concentrations when let out for pasture during the summer (Hymøller, 2008).

The result showed that cows in early lactation had a lower 25(OH)D₃ concentration in plasma than cows in late lactation. Most of the cows were calving in between November and February which resulted in that the early lactation and the indoor period coincided. The difference between the UV-group and MV-group could depend on both early lactation and the non-exposure to sunlight. During the pasture most of the cows were in middle or late lactation. The high concentration in plasma during summer indicated that endogenous production of vitamin D through sunlight is a much more potent source to retain high concentrations in plasma compared to vitamin D supply in diet. Cows in organic production in the northern latitudes need vitamin D supply in diet during the indoor period. .

2. Inledning

Det tvååriga försöket på Tingvalls ekologiska försöksgård gjordes i syfte att få fram resultat avseende korns vitaminbehov i ekologisk produktion. År 2000 förelåg ett förbud enligt förordning 1804/1999 att ge idisslare i ekologisk produktion tillskott av syntetiskt framställda vitaminer. Att framställa naturliga vitaminer jämfört med syntetiskt framställda är möjligt men mycket dyrt. En dispens infördes då det saknades kunskap om vad som sker i idisslaren då de inte längre får tillskott av syntetiska vitaminer. Idag är det tillåtet enligt SJVFS 2005:92 att ge syntetiskt framställda vitaminer till kor i ekologisk uppfödning.

En mycket viktig aspekt angående vitamin D är vår placering på de norra breddgraderna. Vitamin D tas upp från solens ultravioletta (UVB) B strålar via huden och då våra kor stallas in från sen höst till vår är det svårt för korna att få i sig tillräckliga mängder. Solens UVB strålar på våra breddgrader är som mest koncentrerade då solen står som högst. Våra metoder att processa fodret samt lagringsmetoder gör att vitamin D koncentrationen i fodret inte räcker till att tillgodose behovet. Solbestrålat grovfoder som ligger i sträng på åkern har en större koncentration av vitamin D än t.ex. ensilerat som inte förtorkas lika länge som hö. Men solbestrålingen bryter även ner vitamin D efter en tid, och vid lagring oxiderar vitaminer och förstörs.

En annan aspekt är kornas hälsa som är mycket viktig. D vitamin relaterade sjukdomar är kalvningsförflamning, hypokalcemi och rakitis. Rakitis är idag ovanlig och kommer inte tas upp annat än kortfattat i detta arbete. Däremot är hypokalcemi ett tillstånd som drabbar så gott som alla kor mer eller mindre under dräktigheten och framförallt under kalvning. Dessa sjukdomar ger ett stort produktionsbortfall med ekonomiska förluster och det är viktigt att få veta mer om vitamin D och dess samband för att förhindra kalvningsförflamning och hypokalcemi.

3. Litteraturstudie

3.1 Vitaminers historia

Namnet vitaminer härstammar från ”vital amines” som myntades av Funk. I försök av Hopkins 1912 fick råttor föda bestående av renat protein, kolhydrater, fett och oorganiska salter. Råttorna utvecklades normalt först när mjölk tillsattes till födan, vilket bevisade att vissa essentiella faktorer saknades. Funk beskrev dessa essentiella faktorer som ”vital amines” som han trodde innehåll ammoniumkväve. Endast ett fåtal av dessa substanser innehåller ammoniumkväve och namnet kortades därefter ner till vitaminer (Mc Donald *et al.*, 2002).

Vitaminer delas in i vattenlösliga och fettlösliga vitaminer.

De vattenlösliga vitaminerna är: vitamin B₁ (Tiamin), vitamin B₂ (Riboflavin), vitamin B₆, vitamin B₁₂, Biotin, Folat, Inositol, Niacin, Pantotensyra och vitamin C.

De fettlösliga är: vitamin A, vitamin D₂, vitamin D₃, vitamin E och vitamin K (NRC, 2001; Mc Donald *et al.*, 2002).

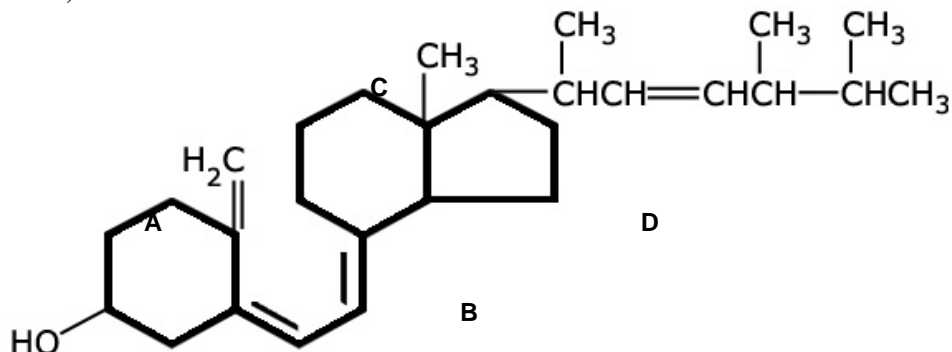
Redan 1645 skrevs den första vetenskapliga beskrivningen om rakitis av Dr. Daniel Whistler följt 1650 av Professor Francis Glisson. Under den industriella revolutionen drabbades människor i Norra Europa, England och USA av rakitis, som medförde att skelettet mjuknade vilket gav deformerade ben. För människor i industriområden med för lite solljus och luftföroreningar blev sjukdomen rakitis ett hälsoproblem. Professor C. Funk insåg 1914 att rakitis endast förekom vid brist av vissa substanser i dieten. I ett 5-årigt försök med 400 hundar försökte Sir Edward Mellanby få valpar att utveckla rakitis. Med torskleverolja och smör som tillsats i den syntetiska dieten förhindrades utvecklingen av rakitis. Den substans som förhindrade rakitis troddes vara vitamin A då både torskleverolja och smör innehöll vitamin A. Skillnaden mellan vitamin A och den antirakitiska substansen visade sig 1922 i McCollums´s laboratorium. Den antirakitiska substansen klarade både tillsats av syre och upphettning till 100°C i 14 h vilket vitamin A inte klarade. Den antirakitiska substansen benämndes vitamin D (Machlin, 1991).

Genom att använda radioisotopen ⁴⁵Ca²⁺ upptäcktes en förskjutning i tid mellan administrering av vitamin D och den biologiska responsen. Absorptionen genom tarmväggen behövde 36-48 timmar för ett maximalt svar. Även i mobilisering av kalcium från ben samt nivå av kalcium i serum förekom en tidsförskjutning efter vitamin D intag. Således måste vitamin D omvandlas vidare för att bli aktiv substans. Genom att märka vitamin D₃ med radioaktiv isotop upptäcktes 25-hydroxy derivat av vitamin D₃ som en antirakitisk substans. Vidare forskning visade att det från 25-hydroxy derivat av vitamin D₃ omvandlades till 1,25-dihydroxy derivat av vitamin D₃ i njurar. 1,25-dihydroxy derivat av vitamin D₃ har även hittats i tarmcellers kärna vilket visar att den fungerar som ett steroidhormon (Machlin, 1991).

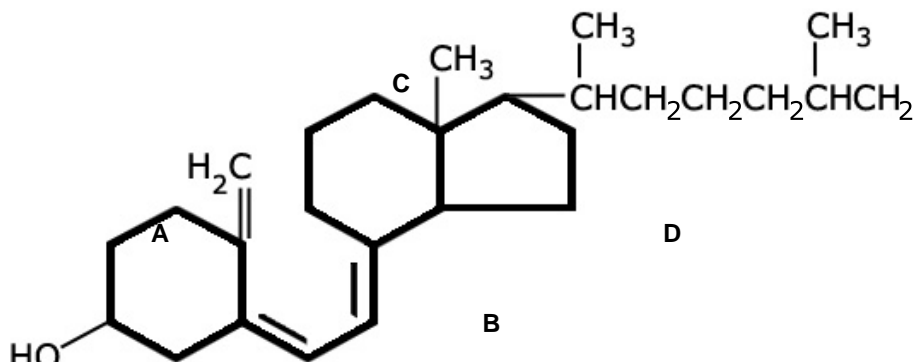
3.2 Kemisk struktur

Vitamin D finns i två former, D₂ (ergocalciferol) och D₃ (cholecalciferol). Vitamin D liknar andra steroider och tillhör cyclopentanoperhydrophenanthrene ”ring systemet”. Båda formerna av vitamin D har tre intakta ringar där B-ringen har delats vid 9,10-kol bindningen vilket ger ett konjugerat triene system av dubbelbindningar, se figur 1 och 2 (Mc Donald *et al.*, 2002).

Det som skiljer de olika vitamin D metaboliterna är sidokedjans struktur. A-ringen finns i två olika stolkonformationer. C- och D-ringarna är stabila och sidokedjan är utdragen horisontellt från D-ringen i både vitamin D₂ och D₃ (Figur 1 och 2). A-ringens dubbelbindningar med B-ringen ger vitamin D₂ och D₃ fyra olika konformationer vilket inte upptäckts hos andra steroidhormoner. Denna rörlighet hos vitamin D kan ge problem hos vitamin D receptorer som inte känner igen andra steroidhormoner och då kan avvisa även de andra konformationerna av vitamin D₂ och D₃ (Machlin, 1991; Mc Donald *et al.*, 2002).



Figur 1. Vitamin D₂ (ergocalciferol) (efter McDonald *et al.*, 2002).



Figur 2. Vitamin D₃ (cholecalciferol) (efter McDonald *et al.*, 2002).

3.3 Nomenklatur

Namnet vitamin D är i enlighet med ”the International Union of Pure and Applied Chemists” (IUPAC). Det formella namnet för vitamin D₃ är 9,10-seco(5Z,7E)-5,7,10(19)-cholestratiene-3β-ol och för vitamin D₂ är 9,10-seco (5Z,7E)-5,7,10(19),21-ergostatetraene-3β-ol (Machlin, 1991).

3.4 Kemiska egenskaper

Vitamin D₃ innehåller tre dubbelbindningar och har en smältpunkt runt 84 –85°C. Vitamin D₃ är olöslig i vatten men löslig i bensen, kloroform, etanol och aceton. Molekylen är stabil mot hetta, syra och alkaliska lösningar. Däremot är den ostabil i ljus och genomgår oxidation vid kontakt med syre mellan 24 – 72 timmar. Vitamin D₂ har samma egenskaper som vitamin D₃ men innehåller fyra dubbelbindningar och har en smältpunkt vid 121°C (Machlin, 1991).

3.5 Förekomst

3.5.1 Förekomst i växter

Ergosterol är en föregångare till ergocalciferol som också kallas vitamin D₂. Ergosterol finns i bakterier, högre växter (svampar och jäst) samt bruna alger (McDonald *et al.*, 2002). Ergosterol finns i cellmembranet hos svampceller. Ergosterol-funktionen i svamp är lik den funktion kolesterol har i djurceller (Andersson, 2007). Vitamin D₂ produceras i växter efter att ergosterol i de svampar som växer på växterna solbestråls (Hidiroglou *et al.*, 1979; Hymøller, 2008). Innehållet av vitamin D₂ i växter beror på hur mycket solbestrålning och vid vilken tidpunkt grönfodret utsatts för solljuset (NRC, 2001). Det finns få pålitliga värden vad gäller innehåll av vitamin D₂ i växter. De siffror som anger halten är gamla och de analysmetoder som då användes är inte lika exakta som de metoder som används idag (Hymøller, 2008).

Vitamininnehållet varierar stort mellan olika fodermedel och vitamin D₂ förekommer endast i de solbestrålade fodermedlen (Carlsson, 2000). Fodermedel som förtorkas ger med tiden ökad halt av vitamin D₂. Nedbrytning av vitaminerna i ensilage sker via oxidationsprocesser och förlusten av vitamin är inte lika stor som vid lagring av hö. Vitamininnehållet i ensilage beror på utvecklingsstadium vid skörd, växtens sammansättning och skördeförhållanden. Vallfoder som är hetluftstorkat ger inget eller mycket litet vitamin D₂ bidrag och då i form av döda blad vid skörd. I hö som skördats sent och som torkats i solen finns de högsta värdena av vitamin D₂ (Carlsson, 2000; Nadeau *et al.*, 2003). Både vitamin D₂ och D₃ är mer resistent mot oxidation än vitamin A (McDonald *et al.*, 2002).

3.5.2 Förekomst i djur

I hudens yttersta lager finns β -dehydrokolesterol som bildats av kolesterol. β -dehydrokolesterol i sin tur bildar med hjälp av solens ultravioletta UVB-strålar cholecalciferol (vitamin D₃) i huden (McDonald *et al.*, 2002). Kor får i sig vitamin D antingen direkt via ultraviolet strålning från solen på huden eller genom att äta solbestrålat foder (Hidiroglou *et al.*, 1979). Tillräckliga mängder vitamin D₃ som produceras via solljus anses kunna täcka behovet hos däggdjur (Machlin, 1991).

3.5.3 Industriell produktion

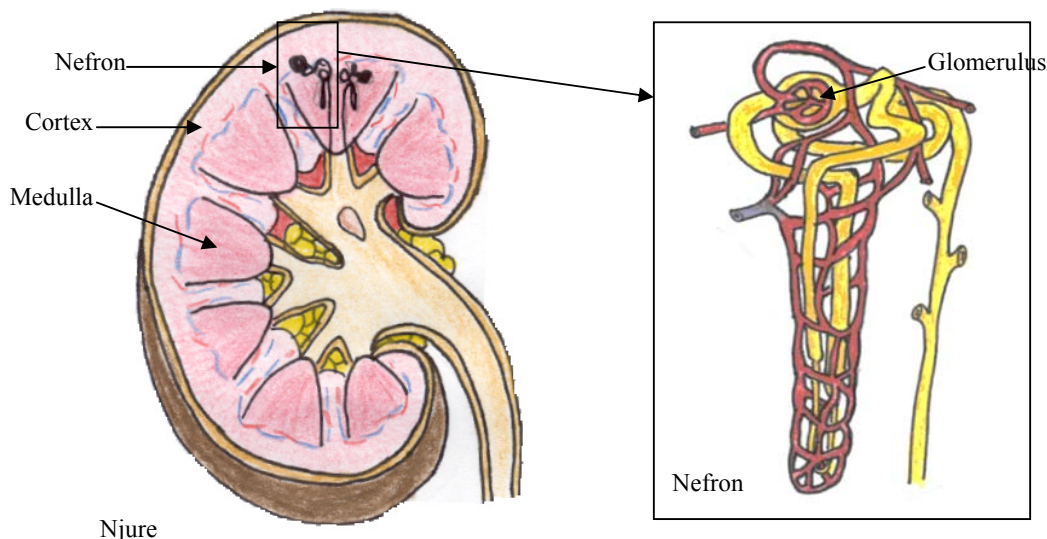
Vitamin D kan framställas industriellt. Vitamin D₂ produceras från ergosterol som extraherats ur jäst och sedan bestråls. Vitamin D₃ produceras då kolesterol dehydrogenerats till β -dehydrokolesterol som sedan bestråls. Andra källor till vitamin D₃ är sill och torskleverolja som innehåller relativt hög andel vitamin D₃ (Astrup & Nedkvitne, 1987). Det finns inga skillnader mellan naturligt vitamin D och syntetiskt framställt vitamin D, molekylerna är identiska. Med syntetisk framställning menas att det på industriell väg tagits fram ett ämne identiskt med det som finns i naturen antingen via kemisk reaktion i en organism eller via kemisk reaktion i provrör. Benämningen på sådana ämnen är syntetiskt framställda naturliga ämnen (Kemifakta, 1998)

Fodertran innehåller stora mängder vitamin A och D men kostnaden är 30-40ggr högre än för syntetiskt framställda vitaminer. Dessutom är fodertran berikat med syntetiskt framställt vitamin E och antioxidanter (Carlsson, 2000). Fodertran är animaliskt och således inget alternativ till gräsätare eftersom det från den 1 januari 2001 inte är tillåtet att använda bearbetat animaliskt protein i foder till livsmedelproducerande djur. I förbudet

ingår kött- ben- fjäderfämjöl och till viss del fiskmjöl. Fiskmjölet ger lukt och smakfel i mjölken (Jordbruksverkets hemsida, 2008).

3.6 Funktion

Vitamin D kan produceras av de flesta däggdjur, inklusive nötdjur (NRC, 2001). Vitamin D är ett pro-hormon som ombildas till ett antal biologiskt aktiva substanser som fungerar likt hormoner. Vitamin D cirkulerar i blodet och reglerar aktivitet i olika celltyper. Huvudfunktion är att underhålla kalciumnivån i plasma. Detta sker genom att öka kalciumabsorption i tarm, mobilisera kalcium från skelett och att öka eller minska njureutsöndringen av kalcium (Rang *et al.*, 2003). Ca 99 % av kalciumet finns bundet i skelettet men den lilla mängd kalcium som finns fritt i blodet är av stor betydelse för kalciumbalansen (Figur 7). Kalcium tas upp via aktiv transport i tunntarmen. Det proteinbundna kalcium molekylerna är för stora för att kunna filtreras i njurens glomerulus men det obundna kalcium kan fritt filtreras i glomerulus (Figur 3, Silverthorn, 2001).



Figur 3. Njuren med glomerulus (efter Silverthorn, 2001).

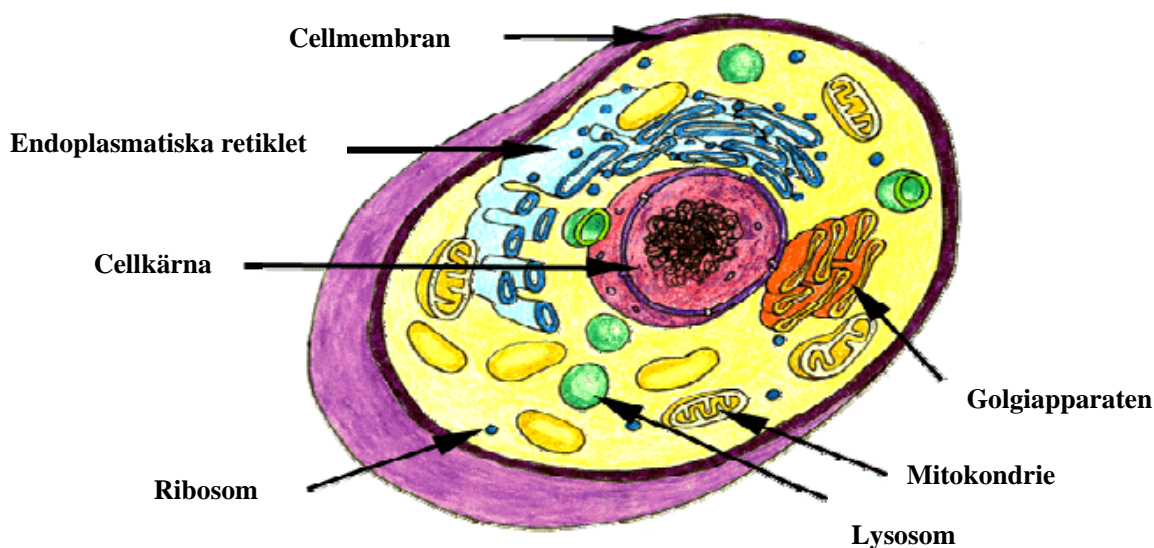
De hormoner som reglerar mobiliseringen av kalcium mellan ben, njure och tarm är:

1. Paratyroidea hormon, (PTH); En extracellulär kalcium-känslig membran receptor känner av en sänkning av kalcium koncentrationen i blodet och stimulerar till PTH utsöndring. PTH mobiliserar kalcium indirekt från ben via osteoclaster, en sorts stamceller som frigör kalcium med hjälp av syra producerat av skelettets näraliggande celler och enzymer. Detta kalcium transporteras ut till blodet. PTH ökar njurens reabsorbering av kalcium och ökar samtidigt utsöndring av fosfat för att kunna behålla den kombinerade koncentrationnivån under den kritiska nivån. Överstigs den kritiska nivån fälls fosfat ut som kristaller vilket kan leda till njursten. Med hjälp av PTH och vitamin D₃ ökas indirekt absorption av kalcium i tunntarmen.
2. Vitamin D₃ (1,25-dihydroxycholecalciferol, 1,25(OH)₂D₃, Calcitrol). Upptaget av kalcium förstärks av 1,25(OH)₂D₃ i tunntarm och underlättar reabsorbering av kalcium i njuren. Mobilisering av kalcium från ben till den extracellulära vätskan stimuleras av 1,25(OH)₂D₃.
3. Calcitonin; på var sida om svalget finns två paratyroidea körtlar som är fästade i tyroidea. I paratyroidea körtlarna finns parafollikulära celler, s.k. C-celler som producerar peptiden calcitonin. Calcitonin utsöndringen stimuleras när

koncentrationen av kalcium ökar i blodet och minskar således benresorptionen samt stimulerar njurutsöndring av kalcium (Silverthorn, 2001).

För att vitamin D₂ och D₃ ska kunna bli biologiskt aktiva måste de båda vitaminerna omvandlas till metaboliter som t.ex. 25(OH)D₃ och 1,25(OH)₂D₃ där hydroxylering skett vid någon av positionerna kol nr: 25, 24,25 eller vid 1,25 i kolkedjan (Astrup & Nedkvitne, 1987; Machlin, 1991). Vitamin D₃ föredras före vitamin D₂ hos människa samt hos de flesta däggdjur (Horst *et al.*, 1982). Enzymet 25-hydroxylase byter ut en väteatom (H) mot en hydroxylgrupp (OH) i kolkedjan. In vitro skiljer inte 25-hydroxylase mellan vitamin D₂ eller D₃ hos människa och höns men hos "new world monkeys" hydroxyleras inte vitamin D₂ av vitamin D 25 hydroxylase enzymet. Kalvar som gavs tillskott oralt av radioaktivt [³H] märkt vitamin D₂ och D₃ hade vitamin D₃ i nästan dubbelt så stor mängd i plasma. Resultatet kan bero på att mikrober i våmmen föredrar att bryta ner vitamin D₂ i större grad än vitamin D₃ eller på den mindre effektiva tarmabsorptionen (Figur 10; Horst & Reinhardt, 1983)

Hos människa lagras vitamin D₃ i fettväv och 25(OH)D₃ i musklerna. Den långsamma omvandlingen av vitamin D₃ i fettväv och hud ger en konstant tillförsel som möter behovet (Horst *et al.*, 1994). Det finns inga undersökningar som visar hur mycket vitamin D djur kan lagra upp under betesperioden. Djur på bete tros få sitt behov av vitamin D tillgodosett, delvis genom foder och delvis via solstrålning. Som en extra säkerhet har mineralfoder och slickstenar som använts under senare år berikats med vitamin A, D och E. Ett bra vallfoder kan täcka vitamin behovet med undantag för vitamin D (Carlsson, 2000).

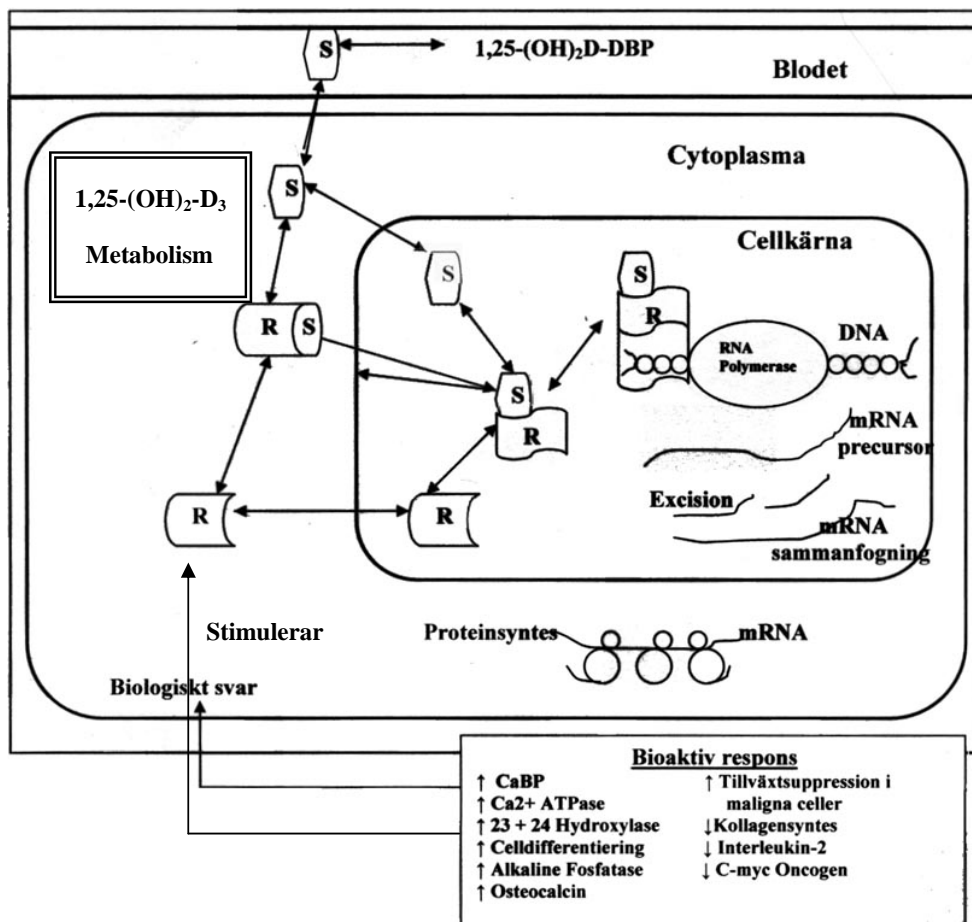


Figur 4. Cellens uppbyggnad (efter Wikipedia, 2008).

Steroidhormonet 1,25(OH)₂D₃ utsöndras från en endokrin körtel som stimulerats fysiologiskt (Astrup & Nedkvitne, 1987). I blodet cirkulerar 1,25(OH)₂D₃ bundet till DBP (vitamin-D bindande protein) och ca 5 % cirkulerar i fri form vilka obehindrat kan passera alla cellmembran p.g.a. sin lipofila byggnad (Horst *et al.*, 1994). Mekanismen hos

1,25(OH)₂D₃ fungerar via specifika, lågkapacitets och högaffinitets receptorer. Genom diffusion tar sig 1,25(OH)₂D₃ genom cellmembranet in i cellen och binder till sin receptor i cytosolen. En viss aktivering av 1,25(OH)₂D₃-receptorkomplexet sker och komplexet binder till kromatinfraktionen i målcellens kärna (Horst & Reinhardt, 1983). Transkriptionen av hormon-känsliga gener anpassas vilket resulterar i induktion eller hämning av specifika mRNA (Machlin, 1991). Kärnans receptor-hormon komplex resulterar i ökad mRNA syntes och ökad syntes av specifika proteiner som kontrollerar transport av kalcium via målvävnader (Horst & Reinhardt, 1983).

DNA syntesen inhiberas av 1,25(OH)₂D₃ vilket leder till att 1,25(OH)₂D₃ bundet till DBP binder en receptor i cellens cytoplasma, som sedan transporteras in i kärnan där den inducerar eller hämmar mRNA transkription. Det leder till specifika variationer i proteinsyntesen av biologiskt aktiva proteiner som CaBP, 23+24 hydroxylase, alkaline fosfatase, osteocalcin, Ca²⁺-ATPase, collagen, Interleukin-2, C-myc oncogen, celdifferentiering och tillväxthämning i maligna celler (Figur 5; Reinhardt & Hustmyer, 1987; Machlin, 1991).



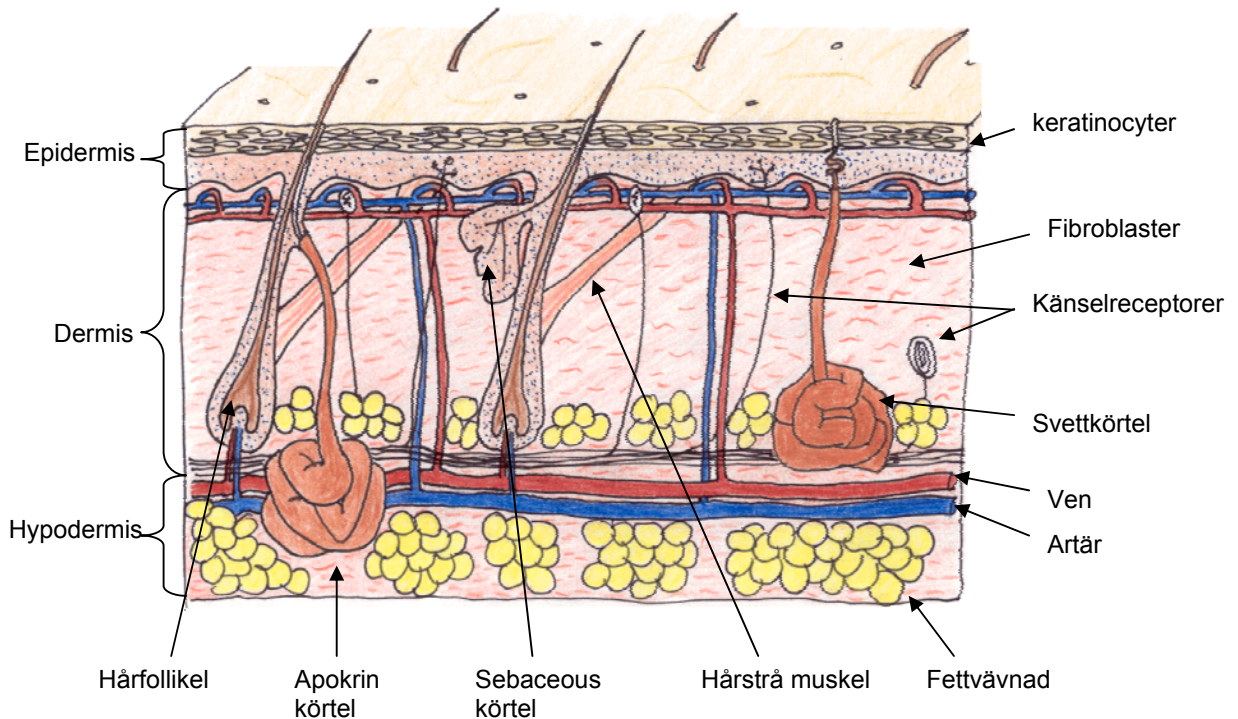
Figur 5. Mekanismen hos 1,25(OH)₂D₃ i cellens kärna och dess biologiska effekter i vävnad (efter Reinhardt & Hustmyer, 1987).

Kalcium balansen regleras av 1,25(OH)₂D₃, cellproliferation, differentiering och immuncellfunktion. Hormonet ansamlas endast i de vävnader som har receptorer för 1,25(OH)₂D₃, (VDR, vitamin D receptorer). Syntesen av VDR påverkas av andra hormoner som retinolsyra, glucokortikoider och östrogen vilket ger ett ökat svar på 1,25(OH)₂D₃ i målvävnaden. Tillsats av 1,25(OH)₂D₃ in vivo till råttor ökar

koncentrationen av VDR i ben med 37 %, i tarm med 30 % och i njure med 200 %. Mjölkkor har ett liknande svar vid tillskott av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vilket delvis kan förklara varför kalvningens förflämning förhindras. Ett ökat antal av VDR ger inte ett ökat cellsvar då enzymerna vitamin D-23 och D-24 hydroxylase kan inaktivera hormoner så snart de kommit in i cellen vilket leder till minskad bindning av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ med VDR och effekten uteblir (Horst *et al.*, 1994). Receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ finns även placentans vävnad och i mjölkkörtlar (Machlin, 1991).

3.6.1 Hud

Huden består av tre lager, epidermis det yttersta lagret, dermis det mellersta lagret och hypodermis som är det innersta (Figur 6; Holick, 2004). Keratinocyter bildar keratinfiber som tillsammans med äldre keratinocyter utgör det yttersta lagret i huden (Silverthorn, 2001). I plasmamembranet hos keratinocyter i epidermis och kollagenbildande fibroblaster i dermis finns 7β -dehydrokolesterol som vid kontakt med solens UVB strålar blir fotokemiskt omvandlat till pro-vitamin D_3 (Holick, 2004).



Figur 6. Hudens olika lager och komponenter (efter Silverthorn, 2001).

När UVB ljus av våglängd 290-315 nm träffar huden omvandlas B-ringens dubbelbindningar och provitamin D_3 bildas. Pro-vitaminets dubbelbindningar omarrangeras i plasmans membranlipider för att bilda vitamin D_3 (Holick, 2004; Tangpricha *et al.*, 2004). Det tar ca 60 dagar för pro-vitaminet i huden att omvandlas till vitamin D_3 . Vitamin D_3 transporteras sedan med DBP till kärlsystemet (Horst & Reinhardt, 1983). Den mängd ultraviolett strålning som når jordens yta beror av atmosfärens kondition och latitud samt av mängden moln och luftföroreningar. Den ultravioletta strålningen är större i tropiska länder än i tempererade (McDonald *et al.*, 2002; Holick, 2004). I norra Kanada är problemet under vintern att ljus under 306 nm försvinner omedelbart p.g.a. en större vinkel av solen mot jordens atmosfär. Det innebär att kor som betar ute under vintern inte får tillräckligt med solljus på huden för att täcka behovet

(Hidioglou *et al.*, 1979). Överskott av solbestrålning leder till en tröskel i omvandlingen av $|\gamma|$ -dehydrokolesterol till pro-vitamin D₃ därefter inaktiveras vitamin D₃ metaboliter för att förhindra toxifiering (Horst & Reinhardt, 1983). Kornas pälstjocklek kan minska åtkomsten av den ultravioletta solbestrålningen (Hidioglou *et al.*, 1979). Årstid, latitud, tid på dagen, hudpigmentering, ålder och fönsterglas påverkar hudens produktion av vitamin D (Holick, 2004).

3.6.2 Våm

För idisslaren börjar metabolismen av vitamin D redan i våmmen där vitamin D₂ och D₃ omvandlas av mikrober till minst 4 olika metaboliter. Ca 80 % av det vitamin D som bildas försvinner ur våmvätskan under 24 timmar. Två av dessa vitamin D metaboliter är cis och trans stereoisomerer av 10-keto-19-nor-vitamin D₃. När dessa metaboliter testats hos råttor har ingen av metaboliterna gynnat benresorptionen däremot har de visat mild antivitamin D aktivitet. Således kan mikrobernas vitamin D metabolism vara en avgiftningsprocess hos djur som får ett för stort tillskott av vitamin D i fodret. Våmmen har således en mycket viktig funktion i D-vitamin-metabolismen hos idisslare som har stora överlevnadsvärden för kon som betande djur (Horst & Reinhardt, 1983).

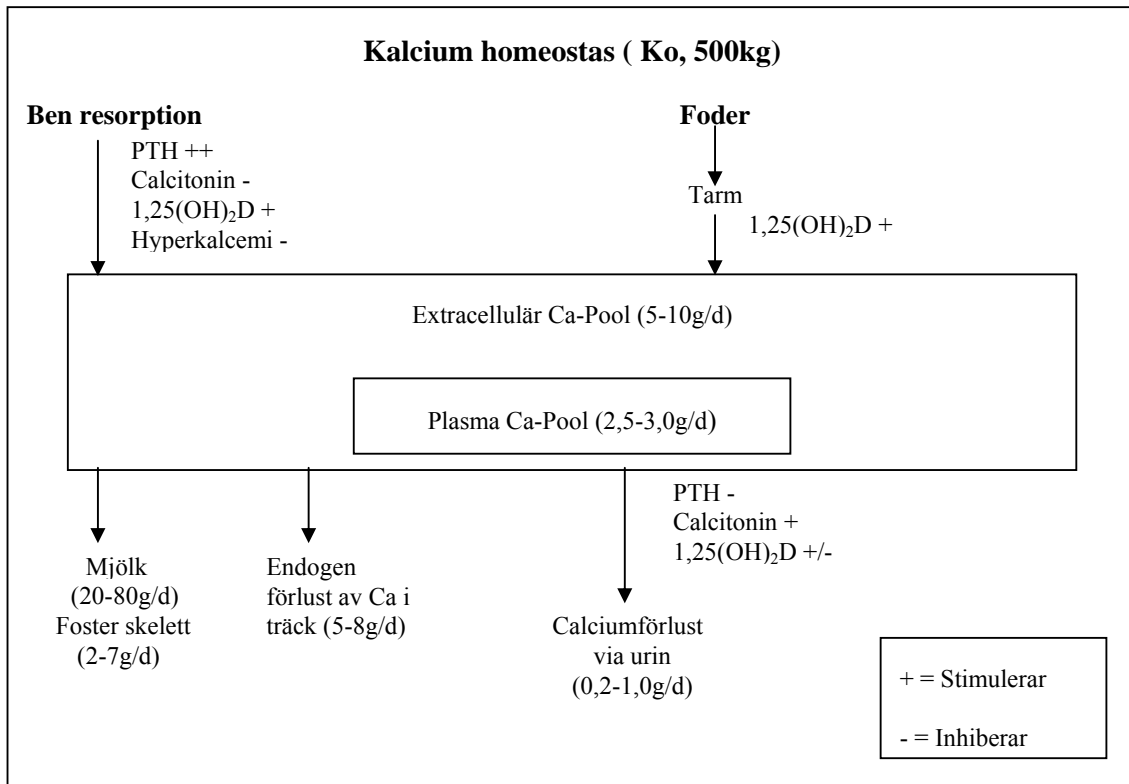
3.6.3 Tarm

Vitamin D:s huvudsakliga uppgift är att öka kalciumabsorptionen genom tarmväggen och att öka ben mineraliseringen. Kalcium krävs för benbildningen, nerv överföring, muskelkontraktioner, blodkoagulering och som en "second messenger" (Machlin, 1991). En "second messenger" är en molekyl i cellen som översätter en signal från den molekyl som skickade signalen, "first messenger", och resulterar i ett svar inuti cellen (Silverthorn, 2001). För att vitaminet ska bli en potent stimulator av kalcium- och fosfor-absorptionen i tarm samt av kalcium- och fosfor-resorptionen från ben sker en hydroxylering vid kol 25 och 1 (Horst & Reinhardt, 1983). Vitamin D₂ och D₃ från foder tas med hjälp av gallsalter upp huvudsakligen i den bakre delen av tunntarmen, passerar via enkel diffusion ut i lymfkärlen och transporteras med kylomikroner till levern (Carlsson *et al.*, 1983; Reinhardt & Hustmyer, 1987).

Transport av kalcium genom tarmväggen kan stimuleras av 1,25(OH)₂D₃ inom 4-6 minuter vilket visar att transporten av kalcium inte enbart styrs genom aktivering av gener. 1,25(OH)₂D stimulerar till produktion av kalcium bindande protein (CaBP) i tarmens mikrovilli som behövs för att transportera kalcium genom tarmens epitel celler (Horst *et al.*, 1997; McDonald *et al.*, 2002). Kalcium transporteras till cellens membran och drivs där ut från cellen med hjälp av magnesium beroende Ca-ATPase. Koncentrationen Ca-ATPase stimuleras av 1,25(OH)₂D₃ (Horst *et al.*, 1997). Denna snabba transport kallas "transcaltachia" och inhiberas av colchicine och leupeptin (Machlin, 1991). Colchicine interagerar med cellens strukturella protein tubulin och är en s.k. antimicrotubuli agent. Leupeptin är antagonist till lysomal cathepsin B, den binder så starkt vid receptorn att cathepsin B ej kan binda och svar i målcellen uteblir (Rang *et al.*, 2003). Vid membranets borstbräm i tarmen sträcks membranet runt kalcium och bildar endocytiska vesiklar innehållande kalcium som sedan fuserar, smälter samman med lyzosomer och transporteras via microtubuli till cellens membran där exocytos sker (Machlin, 1991).

I tarmen sker absorptionen av kalcium från lumen med hjälp av gallsalt och bundet till kylomikroner, via passiv diffusion mellan tarmens epitelceller (paracellulär transport) och via aktiv transport över tarmens epitelceller. Den paracellulära transporten är strängt reglerad av koncentrationen kalcium-joner i tarmlumen (Goff *et al.*, 1991).

När kalciumhalten i fodret är låg eller när behovet av kalcium är högt sker absorptionen av kalcium från fodret effektivast via aktiv transport över epitelcellerna. Denna process kräver $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Koncentrationen av kalcium i tarmen är 1000 gånger mer än i epitelcellerna. Kalcium passerar sedan till cellens membran vilket sker m.h.a. CaBP som finns i cytosolen och är beroende av vitamin D. Kalcium pressas därefter ut mot en 1000 gånger högre koncentrations gradient genom kalciumpumpar som är beroende av Ca-Mg-ATPase. Kalciumpumparna arbetar inuti cellen med en mycket lägre hastighet än maximalt för att kunna driva ut all kalcium som når det basala membranet även under omständigheter som vid brist på vitamin D. Enzymet Ca-Mg-ATPase stimuleras av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ att bli 2-3 ggr effektivare för att förhindra enzymaktiviteten att bli hastighetsbegränsande (Horst *et al.*, 1994).



Figur 7. Kalciumbalans (efter Goff *et al.*, 1991).

Under dräktighet och laktation ökar effektiviteten av tarmens kalciumabsorption som enbart stimuleras av ökade halter $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i plasma. Tarmens receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ökar vilket bidrar till en ökad effektivitet av kalciumabsorptionen i tarmen. Däremot saknar tarmen receptorer för PTH. Det krävs stimulering av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i ca 24 timmar för att öka absorptionen av kalcium i tarmen signifikant. Tarmens $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ receptorer minskar i antal med kons ålder. En äldre ko svarar därför sämre på $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och tar längre tid på sig att anpassa tarmens kalciumabsorption för att kunna möta behovet (Horst *et al.*, 1994). Utsöndring av vitamin D sker framförallt i träck med hjälp av gallsalter. Endast små mängder återfinns i urinen (Machlin, 1991).

Under sinperioden är Ca-behovet minimalt för kon ca 10-12 g Ca/dag (Goff *et al.*, 1991). Reglering av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ genom tarmvägg och resorption från ben av PTH och $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ blir relativt inaktiverad (Horst *et al.*, 1994).

3.6.4 Blod

När vitamin D₃ når blodet cirkulerar det i relativt låga koncentrationer hos kor vilket tros bero på det snabba upptaget i levern (Horst & Reinhardt, 1983). Enligt studier av Horst *et al.* (1981) hade vuxna, icke lakterande och icke dräktiga kor en medelkoncentration av 25(OH)D₃ i blodet på ca 36,9 ng/ml. En annan studie av Mc Dermott *et al.*, (1985) visar att kor i kontrollgruppen har en koncentration runt 14 ng/ml plasma två veckor innan och 2 veckor efter kalvning. Ett försök av Littlelike & Horst (1982) visar att vuxna, icke lakterande och icke dräktiga kor har en koncentration 25(OH)D₃ på ca 25 ng/ml. I en studie av Hidioglou *et al.*, (1979) hade kor under vintern en koncentration 25(OH)D₃ i plasma på ca 13 ng/ml för att i maj öka koncentrationen till över 30 ng/ml plasma. samma kor visade vitamin D brist när koncentrationen låg under 5 ng/ml och toxikos när koncentration låg över 200 ng/ml (Hidioglou *et al.*, 1979; Horst *et al.*, 1994). Resultat från Horst *et al.*, (1994) visar att en normal ko har en koncentration av 25(OH)D₃ på 20 till 50 ng/ml i plasma.

Resultatet från ett försök i norra Kanada visade att kor installade från november till mitten av maj hade en koncentration av 25(OH)D₃ i blodet på ca 19 ng/ml. I mitten av maj fick den ena halvan av de installade korna gå ut på bete och fram till och med 31 juli hade korna på bete ökat koncentrationen i blodet till 49 ng/ml. Den grupp som fick stanna kvar installade ökade sin koncentration i blodet från 19 till 21 ng/ml. Det är en stor skillnad mellan grupperna som sannolikt beror på ökad ultraviolett solbestrålning av kornas hud hos de kor som betade ute. Liknande resultat har visats i studier i Nord Amerika där koncentrationen av 25(OH)D₃ under sommaren var 48 ng/ml och 45 ng/ml (Hidioglou *et al.*, 1979).

I blodet cirkulerar ca 3 – 5 % av det fria 1,25(OH)₂D₃ (Goff *et al.*, 1991; Horst *et al.*, 1994). I en studie av Horst *et al.* (1994) hade kor som inte var dräktiga eller lakterade en koncentration av 5-20 pg/ml cirkulerande i blodet. Under sen dräktighet var koncentrationen 1,25(OH)₂D₃ i blodet ca 20 – 50 pg/ml, vid förlossning och initiering av laktation nåddes nivåer på ca 100 – 300 pg/ml vilket var en allvarlig hypokalcemi (Horst *et al.*, 1994).

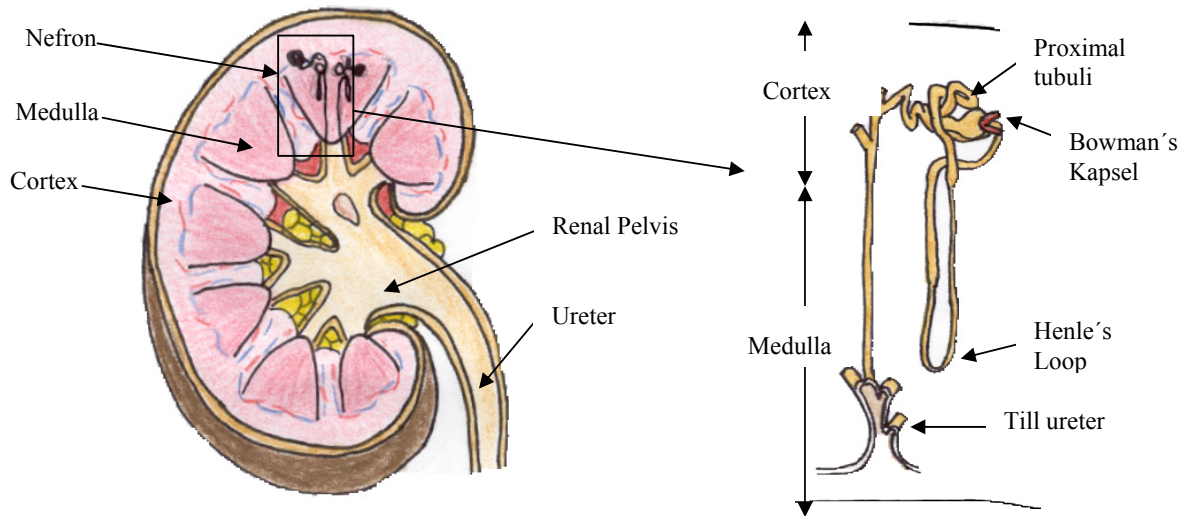
3.6.5 Lever

Vitamin D transporteras via blodet till levern. Här sker en omvandling av vitamin D med hjälp av vitamin D hydroxylase till 25(OH)D då en hydroxylgrupp binds till C-25 (Figur 9; NRC, 2001). Omvandlingen sker i mikrosomer och i mitokondrier på samma sätt som i njuren (Machlin, 1991). Produktionen av 25(OH)D i levern är beroende av mängden vitamin D i fodret (NRC, 2001). 25(OH)D₃ cirkulerar huvudsakligen i plasma och ger en bild av vitamin-status (Machlin, 1991)

3.6.6 Njure

I njuren sker den stora omvandlingen till 1,25(OH)₂D₃. Den stimulerar benresorption och aktiv transport av kalcium och fosfor. En av de mest potenta biologiskt aktiva vitamin D metaboliterna är 1,25(OH)₂D₃ (Reinhardt & Hustmeyer, 1987). För att bli biologiskt aktiv måste 1,25(OH)₂D₃ binda starkt till en receptor i målvävnaden (Horst & Reinhardt, 1983). Enzymet vitamin D 25-hydroxylase som finns i lever-mikrosomer och mitokondrier katalyserar reaktionen. När 25(OH)D₃ når njuren tillsätts ytterligare en hydroxylgrupp till kol-1. Detta katalyseras av enzymet 25-hydroxyvitamin D₃-1- α -hydroxylase (1-hydroxylase) som finns i de energigivande mitokondrierna inuti celler belägna i njurens proximala tubulus (Figur 8; Machlin, 1991; Horst *et al.*, 1997).

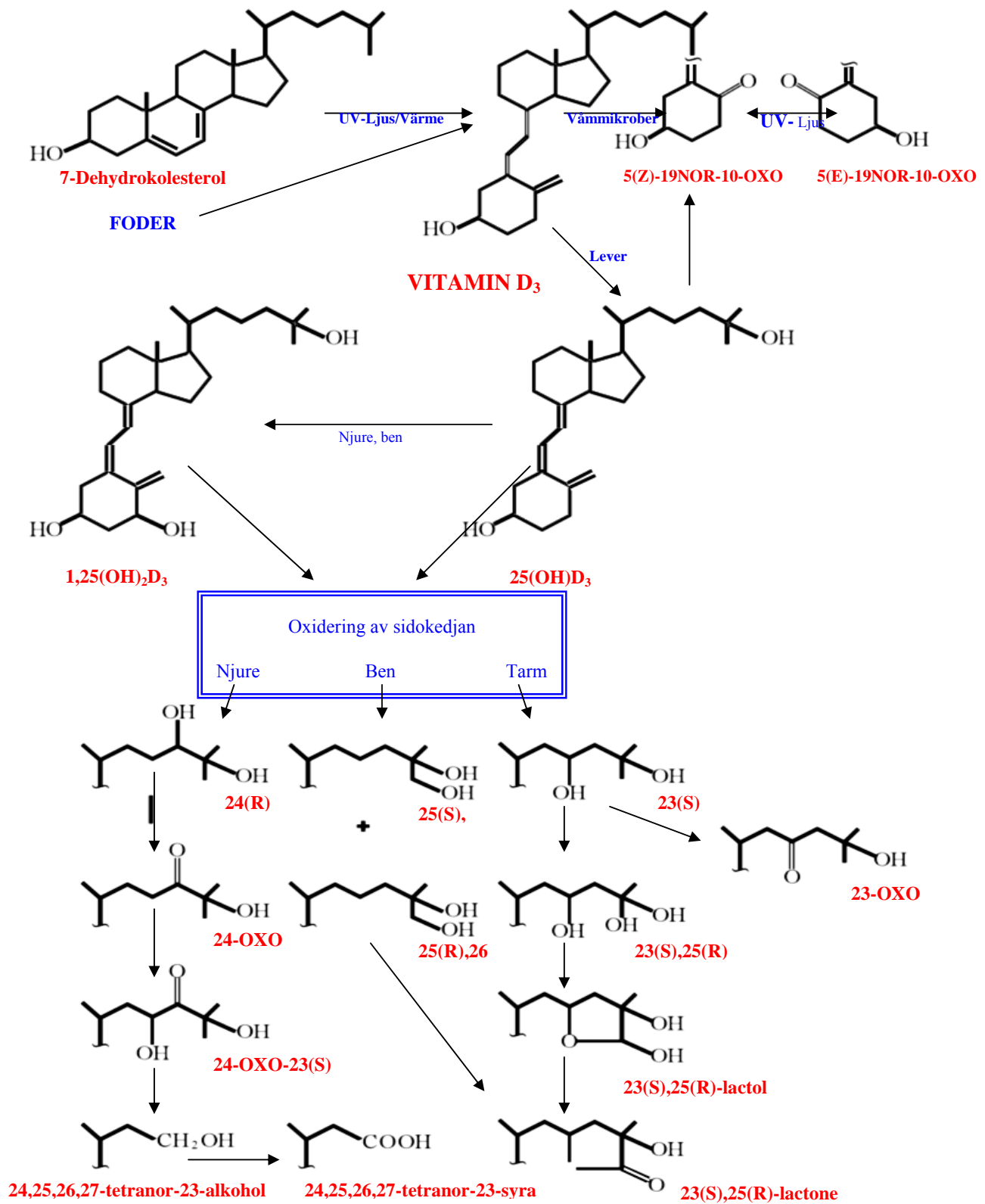
Det endokrina systemet i kroppen är celler och vävnader som utsöndrar olika hormoner (Silverthorn, 2001). Den viktigaste regleringen av vitamin D endokrina systemet sker genom sträng kontroll av 1-hydroxylase. Reglering av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sker så att kalciumbehovet sedan tillgodoses. När nivåer av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ är hög i plasma sjunker produktionen i njuren och när nivån i plasma är låg ökar produktionen i njuren (Machlin, 1991).



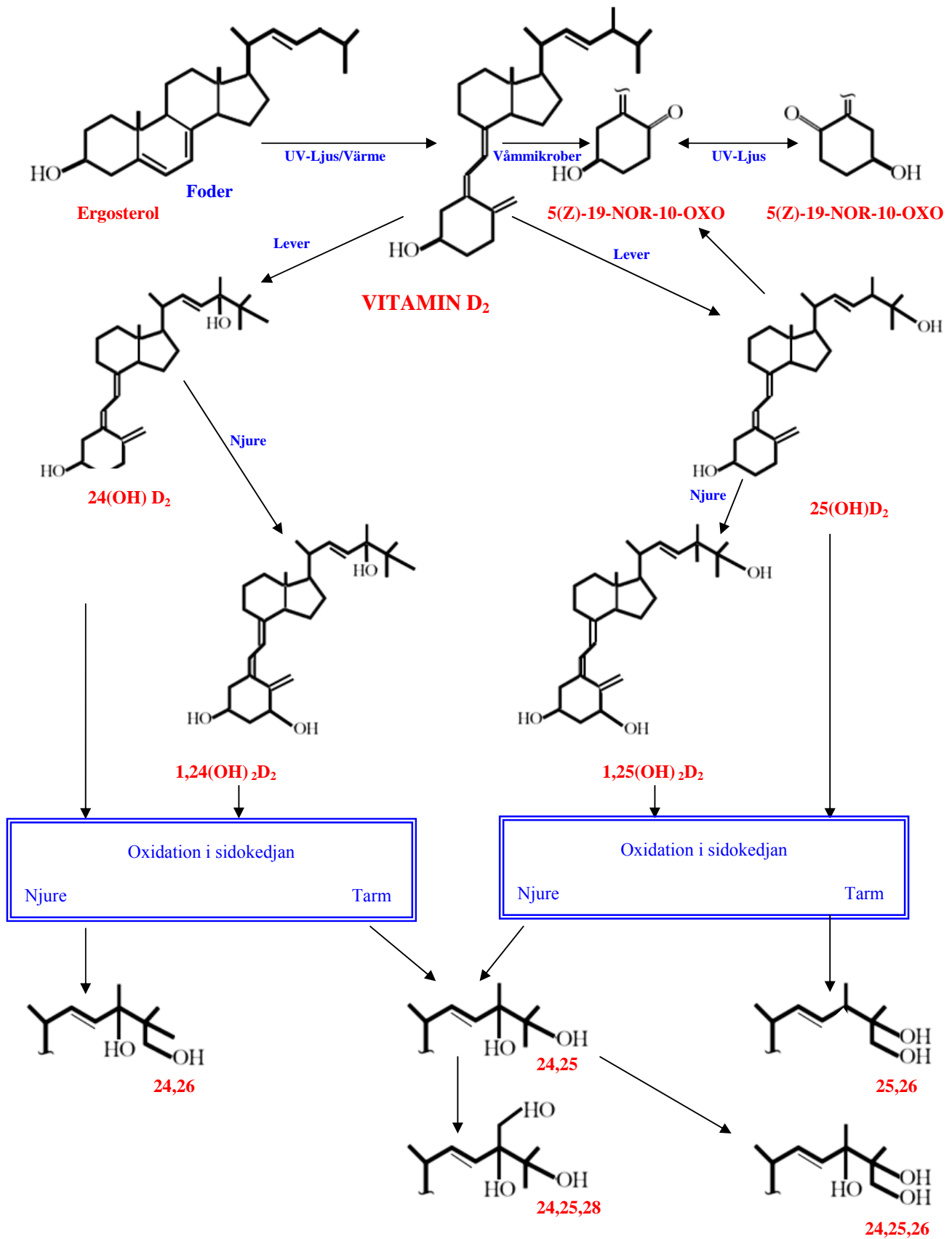
Figur 8. Njurens uppbyggnad med dess nefroner (efter Silverthorn, 2001).

PTH påverkar njurens produktion av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. När kalciumnivån i plasma understiger en viss nivå stimuleras PTH utsöndring som i sin tur stimulerar 1-hydroxylases aktivitet och minskar 24-hydroxylases aktivitet i njuren. PTH utsöndringen anpassas och/eller reduceras av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Machlin, 1991; Horst *et al.*, 1994). Vid uppreglering sker en ökning av antalet receptorer och/eller att bindningen sker med större styrka vilket leder till ökat svar i målcellen (Silverthorn, 2001). En uppreglering av enzymet 1- α -hydroxylase i njuren ger ökad omvandling av $25(\text{OH})\text{D}_3$ till $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Horst *et al.*, 1994). Vitamin D påverkar njuren genom att öka fosfor-resorptionen i tubuli men den normala effekten blir en ökning av membranpermeabiliteten för kalcium, d.v.s. kalcium transporteras lättare genom membranet (Astrup & Nedkvitne, 1987). Både $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ utsöndras från njuren under normala förhållanden och cirkulerar i plasma hos alla ryggradsdjur (Machlin, 1991).

När kalcium nivån sjunker i blodet stimuleras de paratyroida cellerna att producera PTH vilket ökar benresorption, njurens kalcium reabsorption och produktion av calcitriol som i sin tur leder till en ökad absorption av kalcium i tarmen. Vid en ökning av kalcium i blodet sker en negativ feedback, d.v.s de parathyroida cellernas produktion av PTH avtar (Goff *et al.*, 1991; Silverthorn, 2001). När kalciumkoncentrationen i plasma överstiger en viss nivå, vilket sker vid paratyroid tillförsel, hämmas PTH stimuleringen av 1- α hydroxylase och omvandlingen av $25\text{-OH}\text{D}_3$ till $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhiberas. PTH hos idisslare stimulerar endast 1- α hydroxylase vid hypokalcemi och inte under hyperkalcemi (Horst & Reinhardt, 1983) Vitamin D_2 aktivering sker genom att 24-hydroxyleringen av vitamin D_2 bildar $24\text{-}(\text{OH})\text{D}_2$ som m.h.a. 1- α -hydroxylase omvandlas till $1,24\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_2$ som är aktiv i målceller. $1,24\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_2$ kan omvandlas till $24,26\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_2$ och $1,24,26\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_2$. $25(\text{OH})\text{D}_2$ kan omvandlas till $1,24,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_2$ (Figur 10; Horst *et al.*, 1994).



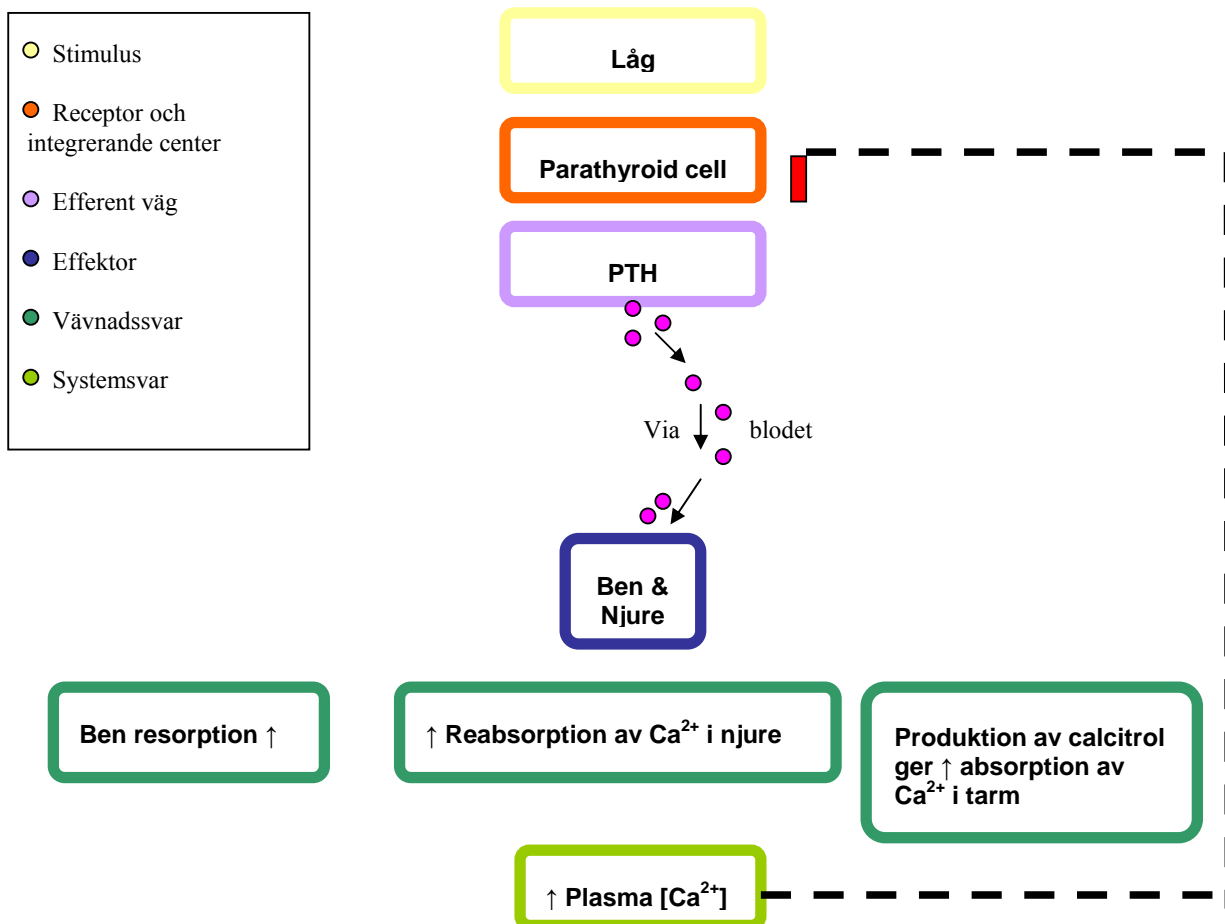
Figur 9. Vitamin D₃ metabolism (efter Horst et al., 1994).



Figur 10. Vitamin D₂ metabolism (efter Horst et al., 1994).

3.6.7 Tyroidea

Vitamin D aktivitet är beroende av tillräcklig thyroxin produktion (Astrup & Nedkvitne, 1987). Tillsammans med PTH reglerar $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mineralbalansen i tarm, njure, ben och den paratyroidea körteln, d.v.s de vävnader som är direkt delaktiga i mineralbalansen. Nivåer av kalcium och fosfat bibehålls av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ som även förser mineraler till benbildningen. Behandling med $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ger ökad storlek hos villus och microvilli i tarmlumen. Borstbrämets struktur hos tarmvillus och microvilli förändras, cellyteproteiner och lipider gör att Ca^{2+} transporter medierade av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ökar. Vitamin D har som huvudsaklig effekt att stimulera benresorption vilket leder till en ökning av kalcium och fosfor nivåer i serum. PTH frisläpps även vid små minskningar av kalciumnivåer i plasma vilket stimulerar till syntes av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Både PTH och $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimulerar således benresorption. Ben är en dynamisk vävnad och omvandlas konstant vilket är livsnödvändigt. Benbildning och benresorption är under normala förhållanden mycket snävt balanserad (Machlin, 1991). Reglering av PTH koncentrationen sker huvudsakligen av kalcium i plasma. Ett försök av Horst *et al.* (1978) visar att kalciumnivån sänktes från ca 10 mg/100 ml en dag innan kalvning till ca 6 mg/100 ml två dagar efter kalvning, samtidigt höjdes PTH koncentrationen från ca 4 ng/ml en dag innan kalvning till ca 9 ng/ml tolv timmar efter kalvning. Resultatet visar att en sänkning av kalciumkoncentrationen i plasma stimulerar till produktion av PTH (Horst *et al.*, 1978). Minskningen av PTH sker genom två olika mekanismer. Inhibering av PTH produktion sker indirekt beroende på den ökade nivån av kalcium och direkt via $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och dess receptorer (Machlin, 1991).



Figur 11. Effekten av PTH, den endokrina reflexen (efter Silverthorn, 2001).

Paratyroidea körtlar fungerar på samma sätt hos idisslare som hos andra däggdjur. De inducerar hypofosfateri, samtidigt som kalcium-koncentrationen minskar och ben resorptionen ökar. Tas paratyroideakörtlarna bort hos djur som får foder med låg halt kalcium utvecklas hypokalcemi och tetani. Tyroidea hos kor med kalvningsförlamning är tömda på kalcitonin och koncentrationen av kalcitonin i blodet är därmed lägre än hos friska kor (Horst & Reinhardt, 1983). Höga koncentrationer av PTH inhiberar enzymet 24-hydroxylase, låg koncentration av PTH och hög koncentration av kalcium och fosfor verkar stimulerande. Låg koncentration av kalcium i fodret till idisslare sänker den cirkulerande koncentrationen av $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ i plasma däremot stimuleras PTH. Koncentrationen av $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ökar inte heller av ökad fosfortillförsel hos kor (Horst & Reinhardt, 1983; Astrup & Nedkvitne, 1987).

I pancreas (bukspottskörteln) finns "Langerhanska öar" som är en liten ansamling av fyra utsöndrande körtlar. Här finns bl.a. betaceller som producerar insulin (Silverthorn, 2001). Vitamin D ökar insulinfrisläpp från pancreas hos råttor både i närvaro och frånvaro av normala kalciumnivåer i serum (Machlin, 1991).

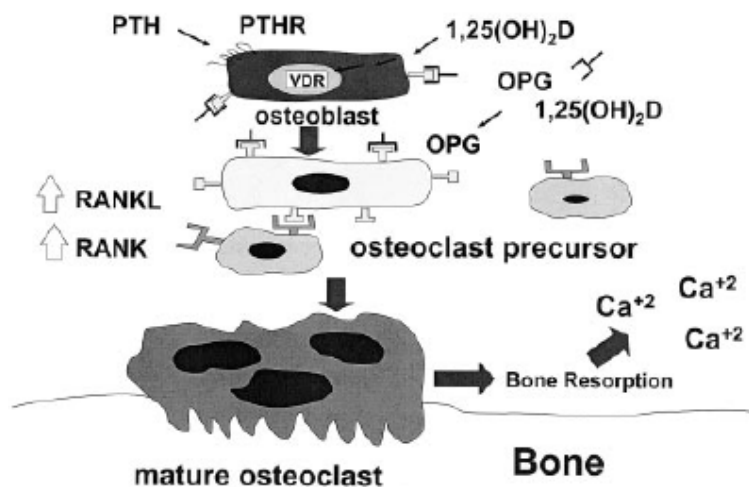
3.6.8 Skelett

Det krävs stora mängder kalcium vid dräktighet och laktation så att fostret kan utvecklas samt för mjölkproduktion (Machlin, 1991). Kor tömmer sina intracellulära kalciumlager flera dagar innan kalvning (Kimura *et al.*, 2006). Kalvning är ett kritiskt tillstånd där det är viktigt att inte förbruka mineraler som kan leda till allvarliga benskador hos modern (Machlin, 1991).

I skelettet existerar kalcium i två tillstånd, övervägande starkt bundet som organiskt benkollagenmatrix, CaHPO_4 och i små mängder i lösningen utanför bencellerna och i canaliculi inuti benet (Goff *et al.*, 1991; Horst *et al.*, 1997). Vid benmineralisering och metabolism involveras PTH, vitamin D metaboliter, cytokiner och kalcitonin (Rang *et al.*, 2003). Förutom vitamin D kan även vitamin A (9-retinoic acid) ha del i kontrollen av kalciumbalansen. Fluor är en antagonist till vitamin D som inhiberar utnyttjandet av kalcium från ben (Astrup & Nedkvitne, 1987). Den enda bencellstyp som har $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ receptorer är osteoblaster. Osteoblaster leder osteoclaster att frisläppa syror och enzymer på benets yta där de upplöser kalcium som sedan transporteras via osteoclaster och frisläpps till plasma (Goff *et al.*, 1991).

Osteoblaster minskar i antal med åldern vilket bidrar till att antalet $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ receptorer också minskar (Goff *et al.*, 1991). Med åldern minskar även bentillväxt och remodulering, t.ex. förstärkning av skelett vid en ökad belastning, där osteoclaster därför får en mindre yta till resorption. Färre osteoblaster svarar på PTH och $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ stimulering och färre osteoclaster finns som kan svara på osteoblasternas resorptionssignaler vilket försenar benets förmåga att bidra med kalcium till plasma. Se PTH komplexets effekt på benresorptionen i (Figur 12). Kalciumresorptionen från ben behöver stimuleras av PTH i ca 48 timmar innan den ökar (Horst *et al.*, 1994).

$1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ påverkar även skelettmuskler vid för låga nivåer av vitamin D då kon kan drabbas av muskelsvaghet, kramp, stelhet och spasmer. Vid D-vitamin brist kan även elektrofysiologiska abnormaliteter uppstå då muskelkontraktioner och relaxering inte sker normalt (Machlin, 1991).



Figur 12. PTH komplexets effekt på benresorptionen (Holick, 2004).

3.6.9 Mjölks

Innehållet av D-vitamin i mjölk brukar normalt vara ca 15 IE/l till skillnad från råmjölken som innehåller 3-4 gånger mer. Kor som utfodras med 15 000 IU av vitamin D₃/dag har ett innehåll i sin mjölk av 40 IU vitamin D₃ metaboliter som ökar med ökat tillskott av vitamin D₃. Även vistelse i solen har betydelse och innehållet av vitamin D₃ metaboliter i mjölken ökar ju längre tid kon vistas i solen. Vitamin D₃ och dess metaboliter transporteras från blod till mjölk m.h.a. 6.0 S vitamin D-bindande protein (DBP) som bildas av 4.0 S DBP och aktin. Innehållet av plasmaproteiner är högt i råmjölken och således också DBP som därmed överför en stor del antirakitisk aktivitet till råmjölken (McDermott *et al.*, 1985)

I en studie gjord av Mc Dermott *et al.* (1985) upptäcktes att kor som fått tillskott i fodret av 250 000 IU vitamin D₃ per dag hade 10 gånger högre koncentration av vitamin D₃ i mjölken vid kalvningen jämfört med kor som inte fick något tillskott. Korna fick tillskott två veckor innan kalvning och tolv veckor efter. Vidare visades även att korna med tillskott av 250 000 IU/dag hade 2,5 gånger högre koncentration än de kor som fått 10 000 respektive 50 000 IU/dag. Medelvärdet på koncentrationen av 25-(OH)D₃ i mjölk var ca 15 ng/l för de kor i kontrollgruppen som inte fick tillskott av vitamin D₃. Samma studie visade att koncentrationen av 25-(OH)D₃ i mjölk är 1,2 % av koncentrationen 25-(OH)D₃ i plasma. Koncentrationen av 1,25-(OH)₂D₃ i mjölk var ca 21 % av koncentration 1,25-(OH)₂D₃ i plasma (McDermott *et al.*, 1985).

En ko som producerar ca 10 kg råmjölk förlorar ca 23 g kalcium då råmjölken innehåller ca 2,3 g kalcium/kg. Det är nästan 9 gånger mer än vad som finns i blodets kalciumpool. Denna förlust ersätts genom att öka tarm- och ben-resorptionen (Goff *et al.*, 1991). En ko som producerar ca 9000 kg mjölk utsöndrar i mjölken ca 11,1 kg kalcium och 8,6 kg fosfor (Horst *et al.*, 1994). Medelkoncentrationen av vitamin D₃ i mjölk efter perioden med råmjölk är ca 19 % av nivån i plasma (McDermott *et al.*, 1985).

3.6.10 Immunförsvar

Receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ uttrycks på många celler i immunförsvaret där de omvandlas och styrs till immunfunktion. Detta upptäcktes då kalvar visade sig ha receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i thymus och lymfkörtlar som skilde sig från de i de klassiska målvävnadernas receptorer. Receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ finns i huden, tymus, lymfkörtlar, tonsiller och hos promonocyter som är föregångare till makrofager och monocyter. Promonocyter utvecklas eller aktiveras via $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimulering (Reinhardt & Hustmyer, 1987). Makrofager och granulocyter fagocyterar och dödar främmande mikroorganismer (Abbas & Lichtman, 2004). In vitro inhiberas DNA-syntes och tillväxt hos aktiverade B- och T-lymfocyter av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vilket i sin tur hämmar produktion av antikroppar från aktiverade B-lymfocyter (Machlin, 1991). Antikroppar utsöndras av B-celler i blod och till mag- och tarmkanalens samt andningsorganens vätska där de angriper och eliminerar mikroorganismer och dess toxiner (Abbas & Lichtman, 2004). Den stress kor utsätts för under dräktighet och vid initiering av laktationen gör att kons immunförsvar sänks. Även i dessa fall har kalcium betydelse då det spelar en stor roll vid signalöverföringen i och mellan celler och för aktivering av celler i bl.a. immunförsvaret. Kor med hypokalcemi är mer känsliga för infektioner än friska kor (Kimura *et al.*, 2006).

3.7 Behov

Ett behov är mängden av ett näringsämne som behövs för att bibehålla djuret friskt, tillåta lyckad reproduktion, lyckad mängd produktion av mjölk och viktökning då djuret hålls under specifika förhållanden. En rekommendation är mängden av ett näringsämne som möter behovet för djur under mindre definierade förhållanden och som inkluderar en säkerhets marginal där variationer som intag, produktion och tillgänglighet till näringsämnet ingår. Ekonomiska fördelar med tillskott av vitaminer är ökad mjölkproduktion, förbättrad reproduktion, minskad förekomst av mastit, minskad förekomst av kalvningsförflamning och färre reproduktionsstörningar (Weiss, 1998).

Kravet på D-vitamin beror bl.a. på innehållet av kalcium och fosfor i fodret, Ca/P kvoten för kor bör vara 1:1 eller 1:2. (Mc Donald *et al.*, 2002). Andra faktorer som påverkar är mängden päls och hår, ålder, kön, grad av utsatthet för solljus och mängden pigment i huden (Machlin, 1991). Hos människa täcks behovet av vitamin D till 90 % av vistelse i solljus (Holick, 2004). Även under höst och vår då det är molnigt har solljuset stor betydelse (Astrup & Nedkvitne, 1987). Vuxna djur har ett behov som ska täcka produktion och dräktighet. Det är svårt att definiera ett exakt behov av vitamin D då det finns osäkerhet i mängden UVB-strålning beroende på vart på jordklotet djuren befinner sig och tillgången till soltorkat foder. Rekommenderade mängder enligt NRC och Spörndly ses i tabell 1-3. För att förhindra bl.a. kalvningsförflamning har mycket höga doser D-vitamin givits till kor men har i vissa fall visat sig vara toxiska (Astrup & Nedkvitne, 1987).

I en studie av Horst *et al.* (1994) visade kor symptom på Vitamin D brist då koncentrationen av $25(\text{OH})\text{D}$ låg under 5ng/ml i plasma och toxikos (förgiftning) då koncentrationen låg över $200\text{-}300\text{ng/ml}$ i plasma (Horst *et al.*, 1994).

Tabell 1. Vitamin D behov för dräktiga sinkor enligt *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (NRC, 2001)

NRC	Holsteinko	
	680 kg	
Foderintag (kg ts)	14.4	13.7
Dagar i dräktighet	240	270
Vitamin D (IE/kg foder)	1520	1645
Vitamin D (IE/dag)	21900	21530

Tabell 2. Vitamin D behov för lakterande kor enligt *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (NRC, 2001)

NRC	Holsteinko	
	680 kg	
Foderintag (kg ts)	20.3	26.9
Mjölproduktion (kg/dag)	25	45
Vitamin D (IE/kg foder)	1004	758
Vitamin D (IE/dag)	21000	21000

Tabell 3. Rekommenderad halt vitamin D i totalfoderstaten till mjölk- och sinkor i Sverige, anpassat efter NRC (Spörndly, 2003)

Spörndly	Per kg ts vid följande produktionsnivå		
	10-30	>30	Sinkor
Vitamin D (IE)*	1000	1000	1500

*Avser tillsatt mängd vitamin baserat på rekommendation av 30 IE vitamin D per kg levandevikt.

3.8 Vitamin D status och bristsymptom

Vitamin A verkar antagonistiskt på vitamin D d.v.s. vitamin A minskar effekten av vitamin D. Vitamin B och K verkar synergistiskt vilket innebär att tillsammans blir effekten dubbel. Även könshormoner påverkar vitamin D. Östrogen och progesterol verkar synergistiskt och androgener antagonistiskt (Astrup & Nedkvitne, 1987). Minskning av kalcium- och fosfor-koncentrationerna är bland de första symptomen vid brist på vitamin D (Machlin, 1991).

3.8.1 Hypokalcemi

Vid tiden för kalvning är mjölkkor utsatta för stor påfrestning och är betydligt mer känsliga för infektioner (Kimura *et al.*, 2006). Behovet av kalcium ökar avsevärt och de flesta kor har någon grad av hypokalcemi (kalciumbrist) vid kalvning och under den första tiden i laktationen (Horst *et al.*, 1997). Kor med hypokalcemi har ett kortare liv i produktionen jämfört med kor utan hypokalcemi (Kimura *et al.*, 2006).

Vid hypokalcemi anpassas tarmabsorptionen snabbt efter att koncentrationen PTH och $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ökat dramatiskt i plasma. Stimulering av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ behövs i ca ett dygn innan en signifikant ökning sker av kalcium absorption genom tarmväggen. Resorption av kalcium från ben behöver ca 2 dygn innan en signifikant ökning nås (Horst *et al.*, 1994). En förklaring till den ökade infektionskänsligheten hos kor med hypokalcemi kan vara att immuncellerna har en minskad koncentration av kalcium i det intracellulära kalciumlagret vilket behövs för att immuncellerna ska kunna aktiveras (Kimura *et al.*, 2006).

3.8.2 Kalvningsförlamning (Parturient paresis)

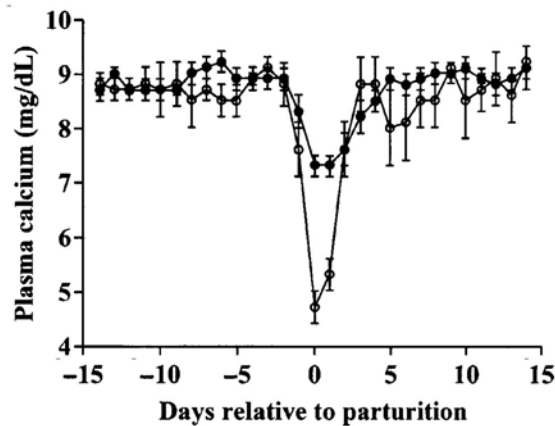
Kalvningsförlamning är en allvarlig form av hypokalcemi som sker i samband med kalvning och vid initiering av laktationen (Horst & Reinhardt, 1983). De kliniska symptomen är aptitlöshet, muskelsvaghet, muskelkramp, inhibering av urinering och defekation. Korna ligger på sida och kan falla i koma och slutligen dö om de inte får behandling (Horst *et al.*, 1997).

Det är mycket ovanligt att kor får kalvningsförlamning vid första laktationen, utan sker vanligtvis först vid 3:e till 4:e laktationen. De flesta kor har en viss grad av hypokalcemi innan tarm och ben anpassas till laktationens kalciumbehov. Detta beror på att mer kalcium lämnar kroppen via mjölk, träck eller urin än vad kon har möjlighet att få i sig via fodret. Kon klarar inte att möta det ökade behovet av foder vid kalvningen samtidigt som tarmabsorptionen av kalcium inte anpassat sig till det större behovet (Horst *et al.*, 1994; Goff *et al.*, 1995). Förekomsten av kalvningsförlamning har visat sig mer frekvent hos raser som SRB (Svensk rödvit boskap) och jersey, Det är oklart varför just dessa raser drabbas men en studie av Goff *et al.* (1995) visar att tarmens receptorer för $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ är lägre i antal jämfört med åldersmatchade Holsteinkor.

Vid kalvning sker en överproduktion av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vilket gynnar utvecklingen av hypokalcemi (Horst & Reinhardt, 1983; Horst *et al.*, 1994). Koncentrationen av både PTH och $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i plasma är högre hos kor som drabbats av kalvningsförlamning jämfört med de friska (Horst & Reinhardt, 1983; Kimura *et al.*, 2006). Kalvningsförlamning orsakas inte av otillräcklig produktion och/eller utsöndring av PTH eller $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Goff *et al.*, 1991). En minskad kalciumkoncentration och ökad benresorption stimulerar PTH att inducera hypofosfatemi. En ökning av benresorptionen hos kor sker inte förrän ca 2 till 3 dagar efter kalvning. Korns förmåga att absorbera kalcium i tarmen minskar ju äldre kon blir (Horst & Reinhardt, 1983).

När det extracellulära kalciumet förbrukas, utnyttjas de intracellulära kalcium lagren för att kon ska kunna upprätthålla kalciumbalansen i kroppen t.ex. då råmjölken bildas inuti mjölkkörtlarna. De intracellulära kalciumdepåerna töms flera dagar innan kalvning hos kor med kalvningsförlamning (Kimura *et al.*, 2006). Cellen lagrar kalcium i det endoplasmatiska retiklet (ER) vilket visas i figur 4. Flera dagar innan hypokalcemi och kalvningsförlamning utvecklas är lagret i ER uttömt. Ibland är det extracellulära och plasmans kalcium så lågt att kon är nära döden innan absorption och resorption funktionen

initieras. Vid dessa tillfällen kan kon hållas vid liv genom att få kalcium intravenöst tills tarm och ben anpassar sig till det ökade behovet (Kimura *et al.*, 2006).



○ kor med kalvningsförlamning ● friska kor

Figur 13. Koncentration av kalcium i plasma hos kor 15 dagar före och efter kalvning (Kimura *et al.*, 2006).

Flera försök av Horst *et al.*, (1978), Horst & Jorgensen, (1982) och Kimura *et al.*, (2006) visar att koncentrationen av kalcium hos unga kor och kor som inte drabbats av kalvningsförlamning två dagar innan och efter kalvning är ca 8-10 mg/100 ml i plasma (Figur 13). Kor som drabbades av kalvningsförlamning minskade från ca 10 mg/100 ml två dagar innan kalvning till ca 5 mg/100 ml två dagar efter kalvning (Horst *et al.*, 1978). Koncentrationen fosfor hos kor från samma försök var ca 6mg/100ml i plasma förutom hos de kor som drabbats av kalvningsförlamning där koncentrationen fosfor minskade strax innan kalvning till ca 2 mg/100 ml plasma för att en dag efter kalvning åter nå 6 mg/100 ml plasma.

För att förhindra utvecklingen av kalvningsförlamning är standardrekommendationerna ett lågt intag av kalcium och fosfor under sinperioden. Ett mindre intag av kalcium stimulerar PTH och $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ produktion och således upprätthållandet av kalciumbalansen. Kon kan då effektivt absorbera kalcium från fodret och samtidigt utnyttja kalcium från bendepåer omedelbart efter kalvning (Horst *et al.*, 1994). I en studie av Green *et al.* (1981) försenades kalvningsförlamning hos de kor som fick foder med lågt innehåll av kalcium. Kalvningsförlamningen hos korna blev dessutom mindre allvarlig (Green *et al.* 1981). Behovet av kalcium som ska täcka det dagliga underhållet och fostrets behov i sen dräktighet är för en ko som väger ca 500 kg ca 31 g/d (Horst *et al.*, 1994; Spörndly, 2003).

Det finns ett samband mellan hög andel kalvningsförlamning och ett dagligt intag av >100 g kalcium under sinperioden hos kor. Behovet hos dessa kor möts då enbart av passiv transport av kalcium via tarmväggen. Aktiv transport och mekanismer för kalciumresorption undertrycks och blir passiva. Vid kalvning har kon svårt att utnyttja både kalciumdepåer i ben och de mekanismer som styr absorption av kalcium i tarmen vilket leder till svår hypokalcemi tills dessa mekanismer återigen aktiveras. En foderstat med låg kalciumhalt, under 20g kalcium/dag, sista veckan innan kalvning som följs av en laktationsfoderstat med hög halt kalcium reducerar dramatiskt förekomsten av kalvningsförlamning (Horst *et al.*, 1994). Kalvningsförlamning och hypokalcemi

frekvensen ökar även med foder som innehåller hög halt av fosfor (>80 g/d). Ökat fosforintag via foder ger ökad halt fosfor i plasma vilket verkar inhibitoriskt på njurens katalyserande enzymer. Produktionen av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ minskar och tarmens kalcium absorberande mekanismer avtar (Horst *et al.*, 1994). Den minskade produktionen av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kan vara en faktor som bidrar till kalvningsförflamning (Barton *et al.*, 1987). En foderstat med låg halt av fosfor ger ingen ökning av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i plasma däremot sker en ansamling i tarmens mukosa. Den högre koncentrationen av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ger ökad kalciumabsorption (Horst & Reinhardt, 1983).

Foderstater med hög andel anjoner (Cl^- och S^{2-}) kan förhindra kalvningsförflamning (Horst *et al.*, 1994). I en studie av Goff *et al.*, (1991) användes 47 Jerseykor som antingen fick en hög anjonfoderstat eller en hög katjonfoderstat innan kalvning. Förekomsten av kalvningsförflamning minskade från 26 till 4 % hos de kor som fick en anjonrik foderstat. De kor i studien som utvecklade hypokalcemi hade en ökad koncentration PTH i plasma vilket visar ett bra svar på den minskade koncentrationen kalcium i plasma (Goff *et al.*, 1991). Kor som utfodrats med anjonrika foderstater ökar inte absorption av kalcium i tarmen men de förlorar mer kalcium i urinen än kor med katjonrika foderstater (Horst *et al.*, 1994).

Foderstater med hög andel katjoner (Na^+ , K^+ och Ca^{2+}) stimulerar till kalvningsförflamning (Horst *et al.*, 1994). De kor i studie av Goff *et al.* (1991) som fick en hög katjon-foderstat hade en låg koncentration $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i plasma vilket kan bero på att njurarna inte svarar på stimuli från PTH. Även utnyttjandet av kalcium från ben stimuleras av PTH och kornas utnyttjande av kalcium från ben var reducerat. När dessa kor fick tillskott av anjoner i foderstaten återställdes deras förmåga att svara på PTH vilket förhindrade utvecklingen av svår hypokalcemi (Goff *et al.*, 1991).

De flesta foderstater baserade på grovfoder har ett högt innehåll av katjoner, särskilt av K^+ som håller kon i en mild metabolisk alkalos. Detta har bevisats via det höga pH i urinen hos kor med hög andel katjoner i foderstaten. Koncentrationen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i plasma var lägre hos kor som fick en foderstat med högt innehåll katjoner jämfört med de kor som fick en foderstat med högt innehåll anjoner. Kon har en sämre förmåga att svara tillräckligt på PTH vilket ger en dålig produktion av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och minskar kons förmåga att utnyttja kalcium från bendepåer. Anjonrika foderstater ökar målvävnadens känslighet för PTH som kontrollerar $1-\alpha$ -hydroxylase och ben kalcium resorption. Under den metaboliska acidosen stimuleras PTH (Horst *et al.*, 1994).

Den bästa metoden att förebygga vitamin D brist hos barn är att ge dem en massiv dos parenteralt av vitamin D, d.v.s. dosen ges via huden eller i blodet. Detta har även visat sig hos kvigor som fick vitamin D injicerat intramuskulärt, de hade högre koncentration av $25(\text{OH})\text{D}_3$ än de kvigor som inte fick vitamin D injicerat. Kor som fick tillskott av vitamin D hade kvar den höga koncentrationen 52 dagar efter att det injicerats (Hidiroglou *et al.*, 1979). Ett problem med behandling av vitamin D förutom toxikos är den inhibitoriska effekten på njurens enzym 1α -hydroxylase vilket styr omvandling från $25(\text{OH})\text{D}_3$ till $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Horst & Reinhardt, 1983; Horst *et al.*, 1997). Kor som behandlats med vitamin D eller dess metaboliter har 10-14 dagar efter kalvning visat symptom på både hypokalcemi och kalvningsförflamning. Detta tros bero på att korna inte kunnat producera eget $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ och på den stora koncentrationen vitamin D som cirkulerade i plasma (Horst *et al.*, 1997).

I Israel användes en metabolit till vitamin D, $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ för att förhindra kalvningsförflamning men det resulterade i att hyperkalcemi framkallades. Metaboliten $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ utvecklades via kemisk syntes från $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ men visades senare kunna ombildas till $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ endogent i levern (Sachs *et al.*, 1997).

En annan variant av behandling är kalciumsalt som ges oralt och minskar antalet kor med kalvningsförflamning men ger sår i mun och magens slemhinnor hos vissa kor (Horst *et al.*, 1997). Produkter med CaCl_2 sänker blodets pH vilket till viss del är positivt för kor med kalvningsförflamning då anjonerna i CaCl_2 reducerar det alkaliska blodet hos kon och ökar känsligheten för PTH (Goff *et al.*, 1991). Ges CaCl_2 i överskott kan kon drabbas av metabolisk acidosis (lågt pH i blodet p.g.a. sura metaboliter) vilket gör att kon tappar aptiten i en period då hon är i stort behov av att äta (Goff *et al.*, 1994). Kor kan behandlas med 23 % kalcium borogluconate lösning mot kalvningsförflamning. Problemet med denna behandling är att kon kan drabbas av hjärtproblem till följd av den höga plasma koncentrationen av kalcium som sker då lösningen injiceras under en kort period (Horst *et al.*, 1997). Kalcium-propionat är ett alternativ till kalciumsalt och höjer koncentrationen kalcium i plasma. Effekten är inte lika snabb som med CaCl_2 men aktiviteten är mer ihållande. Nackdelen med kalcium-propionat är att det behövs stora volymer som ges oralt (Goff *et al.*, 1994).

PTH kan användas för att förhindra kalvningsförflamning genom att ges intramuskulärt eller intravenöst. Ges PTH intramuskulärt krävs 20 gånger mer än vid intravenös tillförsel (Goff *et al.*, 1986; Goff *et al.*, 1989).

3.8.3 Rakitis (Engelska sjukan)

Brist på vitamin D reducerar förmågan att behålla balansen av kalcium och fosfor i kroppen. Resultatet blir en minskning av fosfor och ibland även en minskning av kalcium i plasma som hos unga djur utvecklar rakitis och hos äldre djur osteomalacia (mjuka ben). (Machlin, 1991; NRC, 2001). Hos människa diagnostiseras rakitis när koncentrationen kalcium i plasma är 5-7 mg/100 ml (Machlin, 1991). Rakitis hos unga djur orsakar vanligtvis smärtsamma och förstörade leder, äldre djur drabbas vanligtvis av håla och bäckenfrakturer (NRC, 2001). Symptomen hos unga kalvar är svullna knän, haser och ryggont (McDonald *et al.*, 2002) När sjukdomen fortskrider böjs frambenen åt sidorna, lederna svullnar för att senare leda till tetani och död (Machlin, 1991).

Brist på vitamin D hos människa kan leda till rakitis och följs ofta åt av infektioner med ett snabbare och allvarligare förlopp (Reinhardt, 1987). Både rakitis och osteomalacia gör att benmineraliseringen i det organiska matrix i benet inte fungerar. För att förhindra rakitis hos mjölkkor räcker en mycket liten koncentration av vitamin D för att stimulera kalcium upptag i ben (Astrup & Nedkvitne, 1987). I en studie placerades kor i två olika grupper och system. Grupp I var instängda två månader under laktationen och fick endast alfalfa hö utan tillsats av vitamin D. Grupp II fick alfalfa hö och spannmål med tillskott av 10 000 IU av vitamin D dagligen. Grupp II fick gå ut 1-2 timmar/dag. Kalvar i grupp I föddes med symptom av klinisk rakitis och muskelsvaghet. De kor i grupp I hade en koncentration av 4,02 ng/ml plasma och de kor i grupp II hade 50,6 ng/ml plasma (Horst & Reinhardt, 1983).

3.8.4 Toxikos

För att behandla kor som drabbats av kalvningsförlamning kan vitamin D ges intravenöst men det kan skapa problem och kon kan drabbas av toxikos. Det beror på att den dos som krävs för att upphäva kalvningsförlamning är farligt nära den dos som ger toxikos, förgiftning (Littlelike & Horst, 1982). Flera studier har visat att den höga dos korna fått har resulterat i toxikos och dödsfall (Horst & Reinhardt, 1983).

I försök visades de första symptomen på vitamin D förgiftning 2-3 veckor efter första injektionen av vitamin D. Korna ville inte äta och självsvälten kunde fortgå flera veckor innan korna avled. Korna minskade även mycket i vikt, en degig vätska rann ur ögonen och kornas juver var slappa. Vid tiden innan dödsfallet ökade andningsfrekvensen och pulsen steg hastigt. Korna hade feber och låg ner, ofta med huvudet böjt åt sidan. De kor som inte drabbades så svårt fick ett fördröjt byte till vinterpäl där pälsen var torr och glanslös. Korna saknade aptit och hade reducerad mjölkproduktion. Under senare delen av detta försök hade dessa kor svårt att resa sig p.g.a. stela muskler och leder. Samtliga kor överkonsumerade vatten. Dräktiga kor var mer benägna att drabbas av toxikos än ickelakterande, ickedräktiga kor vilket kan bero på att moderkakans produktion av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gav ett överskott av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ till plasma som resulterade i toxikos (Littlelike & Horst, 1982).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -26,23-lactone är en metabolit med biologisk aktivitet som inte förekommer hos kor med normal koncentration vitamin D. Metaboliten produceras i njuren vid onormalt hög tillförsel av vitamin D när nivån av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ är hög (Figur 9). Överproduktion av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kan ha en toxisk effekt men den effekten förhindras av $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -26,23-lactone (Littlelike & Horst, 1982; Machlin, 1991; Hymøller, 2008). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -26,23-lactone binder till VDB 6 gånger mer än $25(\text{OH})\text{D}_3$ eller någon annan vitamin D_3 metabolit (Horst & Reinhardt, 1983).

4. Material och metoder

4.1 Tingvall

Försöket genomfördes under åren 2003-2005 på Tingvalls ekologiska försöksgård beläget ca 4 mil från Bohuslans kust. Hushållningssällskapet i Väst ägde gården som sköttes av driftledaren Erik Hedlund som även ansvarade för praktiska moment i försöket. Tingvall har bedrivit ekologisk drift sedan 1991. Besättningen på Tingvall bestod av totalt ca 70 kor. Tingvalls foderförsörjning låg på 75 % med en areal på ca 115 ha. Det krävs ca 195 ha för att få 100 % självförsörjning. Förutom slåttervall och bete odlades i huvudsak korn men även grönfoder. Grovfoder lagrades till största del i plansilos och resten i rundbal. Stallet var en kall lösdrift där korna hade liggbås. I stallet fanns en avdelning med mjölkgrup där korna mjölkades två gånger om dagen. Allt foder var 100 % ekologiskt och endast närproducerade fodermedel användes. Fodret bestod dels av blandfoder och dels av individuell tilldelning av kraftfoder från kraftfoderautomater. Korna utfodrades enligt två laktationsstadier; 0-3 månader efter kalvning samt efter 3 månader (Olrog *et al.*, 2002). För att följa KRAV-regler utfodrades korna med maximalt 50 % kraftfoder månad 1 till 3, därefter maximalt 40 % (KRAV-regler, 2004). Korna tillskottsutfodrades med ensilage och kraftfoder under betessäsongens innevistelseperioder. Medelavkastningen (ECM) för Tingvalls besättning var 9873 och 10383 kg per ko och år för kontrollåren 2003/2004 respektive 2004/2005. Fett och proteinhalterna var 3,7 respektive 3,3 för båda kontrollåren 2003/2004 och 2004/2005 (Hedlund, 2006).

4.2 Försöksplan

Försöket pågick under en tvåårsperiod där betessäsongerna ingick. Två laktationer från samma kor registrerades under denna period. För att säkerställa vitamininnehållet i vallen skördades och lagrades vallensilaget utan tillsatsmedel. Allt foder analyserades på näringsinnehåll, hygienisk kvalitet och vitaminerna β -karoten och vitamin E. De närproducerade kraftfodermedlen analyserades för att kunna sättas samman till en foderstat med hög andel naturliga vitaminer. Särskild hänsyn togs till mineralstatus för korna.

För att få en så likartad potential för mjölkproduktion parades kvigor och dräktiga kor med hänsyn till tidigare mjölkproduktion, kalvningsdatum, laktationsnummer, juverhälsa samt härstamningsindex för de kvigor som kalvade för första gången. Korna delades slumpmässigt upp på två behandlingar.

Behandling 1: Blandfoder, 100 % ekologisk foderstat enligt norm med ett mineralfoder utan tillsats av syntetiskt framställda vitaminer.

Behandling 2: Blandfoder, 100 % ekologisk foderstat enligt norm med mineralfoder som innehåller syntetiskt framställda vitaminer.

I detta försök valdes följande 10 kor ut från vardera gruppen som deltog de båda åren.

Utan vitamin, individ nr: 404,487,507,510,515,521,533,547,557,558.

Med vitamin, individ nr: 413,452,476,502,503,513,523,543,548,551.

4.3 Foder

I vår studie betade båda grupperna, de som inte fick tillskott av syntetiskt framställt vitamin D (UV) och de som fick tillskott av vitamin D (MV) i samma betesfälla under betesperioden. De släpptes på bete i maj både år 1 och år 2. Under betesperioderna utfodrades korna i samband med mjölkningen med kraft- respektive mineralfoder. Mineralfodret för den grupp som fick vitamin D var tillsatt med syntetiska vitaminer (Tabell 4). Korna betade från maj till september och under denna tid ersattes ca 8,9 kg ts ensilage med bete.

Tabell 4. *Innehåll av mineraler och syntetiska vitaminer i mineralfodret år 1 och år 2*

Foder	Ca (g)	P (g)	Mg (g)	Se (mg)	Vit E (mg = IE)	Vit D (IE)	Vit A (IE)
Effekt utan vitamin	146	65	92	40	0	0	0
Effekt normal	146	65	92	40	3000	100000	400000

Grönmasseprover samlades vid skörd och slogs samman till ett prov per silo. Proverna analyserades för näringsinnehåll (Tabell 5) och hygienisk kvalitet (pH, socker och syror; Tabell 6) fastställdes. Proverna analyserades hos AnalyCen i Lidköping och hos Kungsängens forskningslaboratorium, SLU.

I den 100 % ekologiska foderstaten analyserades även eget skördat korn, inköpta ärtor, rapskaka och rågvete (år 2) med avseende på näringsinnehåll (Tabell 5).

Tabell 5. Medelvärden och standardavvikelse för näringsvärden i fodret som användes i försöket under år 1 (2003/2004) respektive år 2 (2004/2005), ensilage n=3, korn n=1, rågvete n=1, ärtor n=1, rapskaka n=2 år 1, rapskaka n=1 år 2

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)	Råfett (g/kg ts)
Ensilage, år 1	23±3	9,7±0,6	140±7	67±1,5	23±9,1	548±28	i.a. ⁴
Ensilage, år 2	33±8	11,4±0,4	129±23	70±4,6	17±9,90	488±17	i.a.
Korn år, 1	84	13,2	112	93	-40	200	26
Korn, år 2	84	13,1	123	92	-27	165	28
Rågvete, år 2	85	14,1	118	99	-44	125	23
Ärtor, år 1	86	13,8	210	97	54	209	22
Ärtor, år 2	86	14,0	236	99	77	108	20
Rapskaka, år 1	91±0	17±0	263±8	78±0,7	143±7,1	250±5	239±4
Rapskaka, år 2	93	17	281	79	161	192	246

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibrer.

⁴i.a. = inte analyserad

Tabell 6. Hygienisk kvalitet i vallensilage, ensilerat utan tillsatsmedel, lagrat i plansilo, anges som % av ts där inget annat har angetts (n=3)

	År 1 (2003/04)	År 2 (2004/05)
pH	4,2	4,0
Socker, g/kg ts	1,4	-
Mjölksyra,	12,3	8,5
Ättiksyra	3,4	2,0
Propionsyra	<0,3	<0,06
Smörsyra, % av prov	<0,01	<0,01

Prover togs även på rundbalsensilage och gräshalm år 1 avsedd för sinkorna (Tabell 7). Betesproverna togs 3 dagar innan ordinarie provmjölkning ur samma fålla korna betade i provmjölkningssdagen. Dessa prover togs vid varje provmjölkningstillfälle betessäsongen år 1 och år 2. Proverna slogs ihop och analyserades för näringsinnehåll (Tabell 8).

Tabell 7. Näringsvärden i rundbalsensilage och gräshalm (halm med vall-insådd) till sinkorna (n=1)

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)
Rundbalsensilage	41	8,8	105	65	-6	569
Gräshalm (halm + insådd)	42	10,2	139	72	15	550

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibrer.

För att täcka in hela betesvallen i provet följde man ett tänkt W i fällan. Prover togs på ett sätt som ska efterlikna kornas val av tuggor på ca 9-12 ställen. I en cirkel på ca 3 m i diameter togs ca 25 tuggor (Frame, 1993). Om det på den valda platsen fanns sådant som kor inte betar t.ex. ogräs, togs inget prov där.

Tabell 8. Näringsvärden i sammanslaget betesprov sommaren 2004 och 2005

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)
Bete 2004	20	10,9	182	71	59	380
Bete 2005	19	10,9	144	71	22	392

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibrer.

Kornas foder bestod av ett blandfoder (ensilage och korn) som utfodrades från en mixervagn och med kraftfoder (raps, ärtor, korn och rågvete) som utfodrades individuellt från transponderstyrda kraftfoderautomater. Samtliga fodermedel som ingick i blandfodret vägdes och registrerades. Mineralfodret innehöll vitamin D i form av cholecalciferol och korna fick ca 20 000 IE per dag.

Tabell 9. De totala foderstaterna för kor som fått/inte fått tillskott av vitamin D₃ år 1 och 2. Medelvärden av n=6 foderstater

	Ensilage (kg ts)	Raps (kg ts)	Ärt (kg ts)	Korn (kg ts)	Rågvete (kg ts)	Mineraler (kg)
År 2003/2004						
Kraftfoderstat 50%	10,9	2,7	4,1	3,5	0	0,2
Kraftfoderstat 40%	10,9	1,8	3,2	3,2	0	0,2
År 2004/2005						
Kraftfoderstat 50%	12,6	2,8	3,3	3,7	2,3	0,2
Kraftfoderstat 40%	12,6	1,9	2,3	2,5	1,6	0,2

I försöket utfodrades korna med avseende på laktationsperiod och delades in i högmjolkare, 1-3 månader efter kalvning som fick maximalt 50 % kraftfoder och kor som efter 3:e laktationsmånaden fick maximalt 40 % kraftfoder (Tabell 10). Foderstaterna följer KRAV:s regler för ekologisk produktion (KRAV-regler, 2004).

Tabell 10. Näringsinnehållet i totalfoderstaten. Medelvärde av n=6 foderstater när korna utfodrades med maximalt 50 % kraftfoder (0-3 månader) eller maximalt 40 % kraftfoder (>3 månader) under år 1 och år 2

	År 1		År 2	
	kraftfoder		kraftfoder	
	50 %	40 %	50 %	40 %
Energi (Mj/kg ts)	12,8	13,0	12,8	13,1
Rp (g/kg ts)	172	170	169	169
NDF¹ (g/kg ts)	330	344	368	374
Stärkelse (g/kgts)	231	191	244	195
Råfett (g/kg ts)	32	46	32	53
AAT² (g/MJ)	7,0	6,4	7,2	6,3
PBV³ (g/dag)	547	744	508	856
EPD⁴ (%)	55	54	55	53
EPD⁵ (%)	76	79	76	78

¹NDF = Neutral detergent fibrer.

²AAT = Aminosyror absorberade i tarm.

³PBV = Proteinbalans i våm.

⁴EPD = Effective protein degradation = andel våmnedbrytbart råprotein.

⁵EPD = Effective fiber degradation = andel våmnedbrytbar fiber

4.5 Övriga provtagningar

4.5.1 Blodprov

Innan korna gick in i försöket fick de lämna ett så kallat nollprov för att redovisa kornas utgångsläge. Därefter togs blodprov ca 3 veckor innan kalvning, inom 24 timmar efter kalvning, 3-4 veckor efter kalvning, laktationsmånad 3-5 samt laktationsmånad 7-9. Sammanlagt gav varje ko blod 6 gånger inklusive nollprovet.

För att blodet inte skulle koagulera samlades blodet i 10 ml heparin rör som därefter centrifugerades vid 3000 rpm i ca 10-15 minuter. Plasman pipetterades ner i 2 rör som sedan frystes vid minus 20 grader. Plasman analyserades sedan för att bestämma koncentrationen av 25(OH)D₃.

4.5.2 Mjölksprov

Korna provmjölkades var 14:e dag under de första tre laktationsmånaderna därefter en gång i månaden. Mjölken analyserades med avseende på protein, fett, urea och celltal och mjölkavkastningen mättes med recorderbehållare. Varje ko lämnade fem mjölkprov för vitaminanalys per laktation. Det första provet togs ur råmjölken direkt då kon kalvat. Provtvå togs ca fyra dagar efter kalvning och de sista proven togs samtidigt med

blodprovstagningen vid morgonmjölkningen. Proverna frystes ner direkt efter provtagning (-20°C) i väntan på analys. Analys av vitamin D i mjölk är dock ännu ej utförd.

4.5.3 Hälsa, fruktsamhet, vikt och hull

Djurhälsan kontrollerades dagligen och veterinärdata samlades in. Registrering av hälsa sköttes av personalen på Tingvall efter både egna diagnoser, antal veterinärbehandlade kor, samt antal friska kor. Fruktsamheten kontrollerades genom antal insemineringar per dräktighet och kalvningsintervall.

En gång i månaden vägdes 50 kor som var delade på de två behandlingarna UV och MV och deras hull bestämdes. Detta utfördes av samma person genom hela försöksperioden. En femgradig skala användes där 1 är mycket mager och 5 är mycket fet (Edmonson *et al.*, 1989).

4.6 Vitaminanalys

Alla prover analyserades i Foulum, Danmark på Danmarks jordbruksforskning vid avdelningen för husdjursnäring och fysiologi. Proverna analyserades för 25(OH)D₃ som är en aktiv metabolit av vitamin D₃.

Vattenkvaliteten säkrades genom behandling av Milli-Q 185 filter från Millipore S.A.S. Molsheim, France. Metanol, heptan och acetonitril som användes var anpassad för HPLC, och inköpt från Lab-Scan Ltd. Dublin, Ireland. Etanol 96 % som användes kom från Danisco A/S Copenhagen, Danmark. Askorbinsyran var inköpt från J.T. Baker, Deventer, Holland och av Askorbinsyran användes 40 g som löstes i 200 ml vatten för att få en 20 % lösning. Askorbinsyran förbereddes ny varje vecka. Varje månad löstes kaliumhydroxid (KOH) i 50 % lösning med vatten. Air Liquid från Høje i Danmark levererade den tekniska gasen. I HPLC användes som extern standard 25-hydroxycholecalciferol (25-hydroxivitamin D₃) inköpt från Fluka (cas no.63283-36-3) från Buchs, Schweiz (Hymøller, 2008)

4.6.1 Teknisk utrustning

1. HPLC: Perkin-Elmer Serie 200 auto sampler med pump från Perkin-Elmer inc. Boston, USA.
2. Centrifug: Hettich Rotant A/S type 3510 centrifuge från Hettich Zentrifugen, Tuttingen, Tyskland.
3. Vaporisator: Supertherm Vaporisator från Mikrolab Aarhus A/S, Højbjerg, Danmark.
4. Detektor: Perkin-Elmer 235C diode array UV detektor. Perkin-Elmer Inc. Boston, USA.
5. Data: Total chrom Workstation version 6.3 från Perkin-Elmer Inc. Boston, USA.
6. Standardkolumn: Supelcogel ODP-50 supelcoguard cartridge 20 x 4,0 mm ID med 5 µm partikelstorlek. Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA.
7. Analyskolumn: C18 Supelcogel ODP-50 150 x 4,0 mm ID med 5 µm partikelstorlek. Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA.

4.6.2 Blod

- 1.5 ml plasma placeras i kulturglas därefter tillsattes:
- 2.0 ml etanol 96 %
- 0.5 ml metanol
- 1.0 ml 20 % askorbinsyra
- 0.3 ml KOH-H₂O (1:1)

När etanol och metanol tillsätts binds protein som faller till botten. Ascorbinsyran tillsätts för att skydda vitamin D från att oxidera. D-vitamin förstörs av UV-ljus och hanteras så mörkt som möjligt i alla steg. Proverna ställdes ner i ett vattenbad 80°C i 20 minuter för att försåpas. Vid försåpning spjälkas triglyceriderna till fria fettsyror av kaliumhydroxiden. Därefter kylde proverna ner i kallt vattenbad. När de var avkylda tillsattes 5 ml heptan för att sedan centrifugeras på 3000 varv/min i 10 minuter och i 20°C. Det steget gjordes två gånger för att säkerställa att allt vitamin D bundit till heptanfasen. Proverna får sedan evaporera (avdunsta) i 40°C tills de är helt torra, heptanfasen avdunstar och lämnar provet kvar. När de torkat tillsattes 100 µl 80 % acetonitril i vatten och lämnas i åtminstone 15 h i 5°C. Proverna centrifugeras i 10 minuter, 20°C på 3000 varv/min (Hymøller, 2005).

10 µl av provet fördes ner i små glasrör, analyscolumner, och sedan in i HPLC maskinen. En pre-column av samma material som analyscolumnen användes också som ett filter för att skydda mot orenheter i provet. Vid analysen i HPLC tillsattes en gradientlösning för att kunna detektera vitamin D och dess aktiva metaboliter bestående av acetonitril/acetonnitril-vatten 60 % metanol i ett flöde av 1 ml/min enligt ett pumpprogram (Tabell 11). Lösningen gasades med helium innan användning. Detektionsgränsen för 25(OH)D₃ var 0,6 ng/ml (Hymøller, 2008).

Tabell 11. Pump program som användes som gradient lösning i HPLC (Hymøller, 2008)

Steg	Tid (min)	60 % acetonitrile (%)	100 % acetonitrile (%)	Methanol (%)	Kurva
0	5,0	78,0	12,0	10,0	0,0
1	17,0	78,0	12,0	10,0	0,0
2	4,0	35,0	55,0	10,0	3,0
3	10,0	22,0	68,0	10,0	-2,0
4	10,0	1,0	89,0	10,0	2,0
5	5,0	1,0	89,0	10,0	0,0
6	3,0	78,0	12,0	10,0	1,0

4.7 Statistik och övrig databehandling

Antalet kor som ingick i analyserna av vitamin D samt mjölkproduktion var 10 i grupp UV och 10 i grupp MV och det var samma kor i försöket både år 1 och 2. Antalet kor som ingick i hull och viktanalyserna var 25 i grupp UV och 25 i grupp MV. Försöksdata från år 1 (2003/04) och år 2 (2004/05) analyserades separat. All information från försöket med innehållet av vitamin D i plasma bearbetades statistiskt med variansanalys i Proc Mixed Model i SAS (1999). Den statistiska modellen för de tre första värdena vid kalvning inkluderade behandling, ko-par, tid (före, under och efter kalvning) samt samspel mellan behandling och tid. De prov som togs i mitten och i sen laktation analyserades i mixed model med behandling och ko-par som faktorer. Effekt av år testades men gav inga signifikanta skillnader mellan åren, därmed analyserades åren separat.

Data för mjölkproduktion, hull och vikt för månaderna 1-3 och >3 månader bearbetades statistiskt med variansanalys där PROC GLM i SAS (1999) användes. I den statistiska modellen för mjölkproduktion ingick behandling och ko-par, dessutom ingick effekt av laktationsgrupp (1:laktation 1, 2:laktation 2-3, 3:laktation 4 och äldre kor) samt samspel mellan behandling och laktationsgrupp för hull och viktanalys.

Hälsodata innehållande behandlingsgrupp (MV, UV) och år (1 och 2), bearbetades statistiskt med hjälp av Fischer's exact test. Antalet kor som ingick i analysen för hälsodata är 15 kor i UV-gruppen och 14 kor i MV-gruppen. Vardera kategori jämfördes mellan behandlingsgrupper inom år och mellan år inom behandlingsgrupp. Kalvningsintervall och antal inseminationer per dräktighet redovisas som medeltal för varje grupp. Medelvärde delades upp efter om de varit seminerade eller betäckta av tjur.

Resultat med ett P -värde $<0,05$ betraktades som signifikant och med ett P -värde $0,05 < P < 0,10$ betraktades som tendens till signifikant.

5. Resultat

5.1 Vitamin D i blod

Det fanns ingen signifikant skillnad mellan UV- och MV-gruppen det första året 3 veckor innan kalvning och vid kalvning. Vid 3 veckor efter kalvning fanns en signifikant skillnad mellan de kor som fick och de som inte fick vitamin D. Denna effekt blev större 3-5 månader efter kalvning men minskade något i sen laktation (7-9 månader) men skillnaden mellan grupperna var fortfarande signifikant (Tabell 12).

Tabell 12. Medelvärde av koncentrationen 25(OH)vitamin D₃ i plasma hos kor 3 veckor innan kalvning, vid kalvning, 3 veckor efter kalvning, 3-5 månader efter kalvning och 7-9 månader efter kalvning. 10 kor utfodrades med tillskott av syntetiskt framställt vitamin D (MV) och 10 kor utan tillskott av vitamin D (UV) i mineralfodret

	År 1			År 2		
	UV (ng/ml)	MV (ng/ml)	SEM ¹ (ng/ml)	UV (ng/ml)	MV (ng/ml)	SEM (ng/ml)
3 v innan kalvning	8,23	9,16	1,76	5,68	9,42*	1,69
Kalvning	5,75	5,76	1,70	4,86	6,99	1,69
3 v efter kalvning	4,27	7,67*	1,65	4,14	9,45**	1,74
3-5 mån. efter kalvning	6,13	16,77**	2,20	6,00	17,47**	3,35
7-9 mån. efter kalvning	15,32	21,23*	2,36	14,64	21,89	5,23

¹ SEM=Standard error of the mean (SEM), standardavvikelse

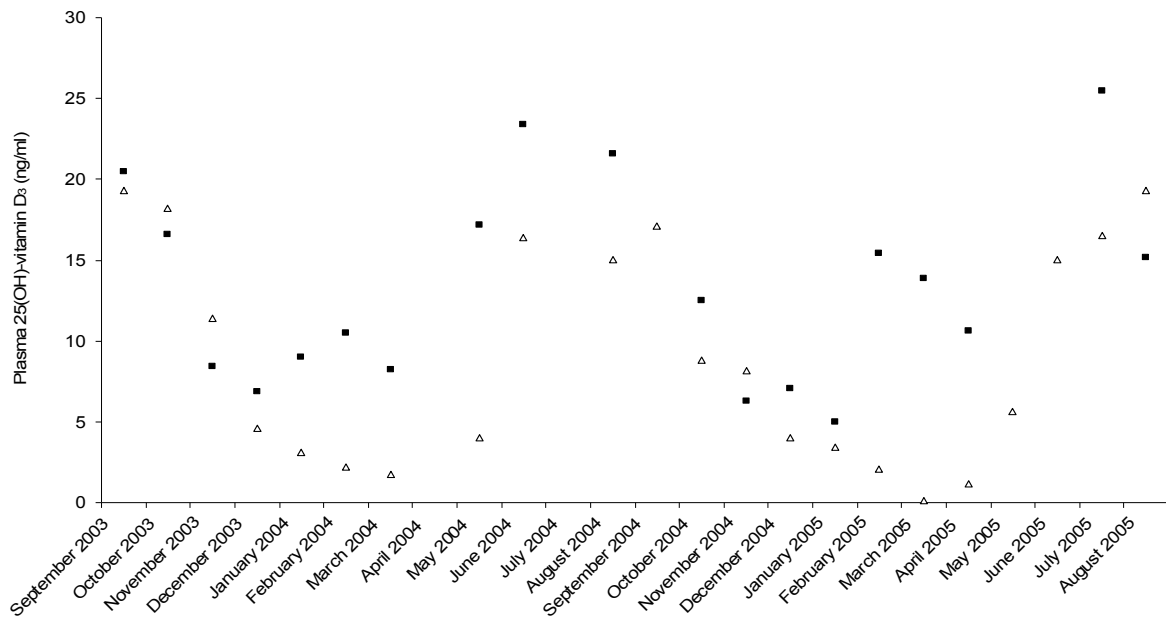
*, ** = signifikanta skillnader mellan de två behandlingarna inom samma rad och år.

* P < 0,05

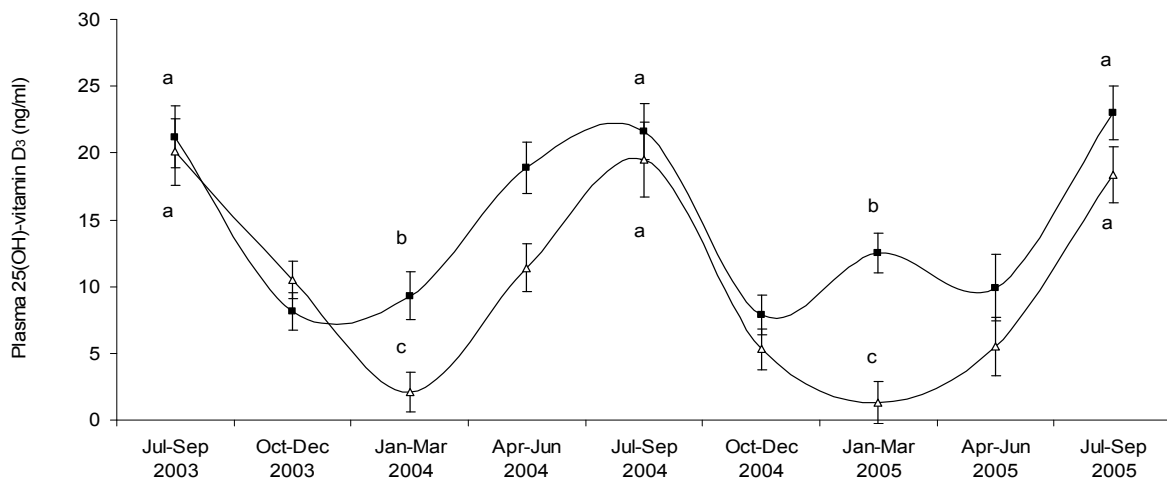
** P < 0,01

År 2 fanns det en signifikant skillnad mellan grupperna i nivån av vitamin D i plasma redan 3 veckor innan kalvning men vid kalvning fanns ingen skillnad. Vid 3 veckor och 3-5 månader efter kalvning fanns även där en signifikant skillnad mellan de kor som fick och de som inte fick tillskott av vitamin D. Det fanns en numerisk skillnad även 7-9 månader efter kalvning men eftersom medelvärdet är baserat på 8(UV) och 5(MV) kor p.g.a. utgångna kor blir skillnaden ej signifikant (Tabell 12).

Genom att beräkna medelvärdet för koncentrationerna av vitamin D vid tidpunkterna då proverna togs har vi fått fram koncentrationerna månadsvis (Figur 14). Det finns en tydlig variation årstidsvis mellan MV-gruppen och UV-gruppen. Koncentrationen 25(OH)D₃ är relativt låg under slutet på vintern fram till april och relativt hög under perioden juli-september.



Figur 14. Årstidsvariationen av 25(OH)D₃ i plasma, månadsvis (ΔUtan vitamin D₃, ■Med vitamin D₃; Hymøller, 2007).



Figur 15. Årstidsvariationen av 25(OH)D₃ i plasma, kvartalsvis (ΔUtan vitamin D₃, ■ med vitamin D₃; Hymøller, 2007).

Figur 15 visar att i kvartalet januari-mars har koncentrationen 25(OH)D₃ i plasma hos kor i UV-gruppen minskat till en tiondel av den koncentration de hade i kvartalet juli-september. I MV-gruppen var koncentrationen 25(OH)D₃ i plasma signifikant högre ($P < 0,01$) än i UV-gruppen i kvartalet januari-mars båda åren. MV-gruppen hade en 4 gånger högre koncentration än UV-gruppen år 1. MV-gruppen hade en 8 gånger högre koncentration än UV-gruppen år 2. Båda grupperna hade liknande relativt höga koncentrationer vid betet under sommaren (Hymøller, 2008).

5.2 Mjolkproduktion

Det fanns inga signifikanta skillnader i mjölkavkastning, fettmängd, proteinmängd, celltal eller urea mellan den grupp som fick tillskott av vitamin D och den grupp som inte fick något tillskott (Tabell 13 och 14). Resultatet som redovisas inkluderar de kor som ingick i försöket båda åren. Individ nr 523 utgick dock under sen laktation år två.

Tabell 13. Medelvärden av mjölkavkastning, ECM, fett- och proteinhalt, fett- och proteinmängd, celltal och ureahalt i mjölken för de båda grupperna vid tre olika laktationsstadier: 1-3 samt senare än 3 månader efter kalvning, andra laktationen 2003/2004 (år 1). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=10)

ÅR 1	1-3 månader			> 3 månader		
	UV	MV	P	UV	MV	P
Mjök (kg)	37,4	38,4	ns	32,7	32,2	ns
ECM (kg)	35,8	36,4	ns	31,3	30,0	ns
Mängd fett (kg)	1,4	1,4	ns	1,2	1,1	Ns
Fetthalt (%)	3,8	3,7		3,7	3,5	
Mängd protein (kg)	1,2	1,2	ns	1,1	1,1	ns
Proteinhalt (%)	3,2	3,3		3,3	3,3	
Celltal i mjök (x1000)	43,5	89,4	-	89,5	197,6	-
Urea i mjök (mmol/l)	4,0	3,8	ns	4,0	3,5	ns

ns, not significant = inte signifikant

Tabell 14. Medelvärden av mjölkavkastning, ECM, fett- och proteinhalt, fett- och proteinmängd, celltal och ureahalt i mjölken för de båda grupperna vid två laktationsstadier: 1-3 samt senare än 3 månader efter kalvning, andra laktationen 2004/2005 (år 2). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=10)

ÅR 2	1-3 månader			> 3 månader		
	UV	MV	P	UV	MV	P
Mjök (kg)	44,8	41,5	ns	34,3	34,8	ns
ECM (kg)	42,8	39,9	ns	34,8	31,6	ns
Mängd fett (kg)	1,7	1,6	ns	1,4	1,2	ns
Fetthalt (%)	3,9	3,8		4,2	3,4	
Mängd protein (kg)	1,4	1,3	ns	1,2	1,2	ns
Proteinhalt (%)	3,2	3,2		3,4	3,3	
Celltal i mjök (x1000)	357,6	335,8	-	452,9	410,9	-
Urea i mjök (mmol/l)	3,8	3,6	ns	3,9	3,5	ns

ns, not significant = inte signifikant

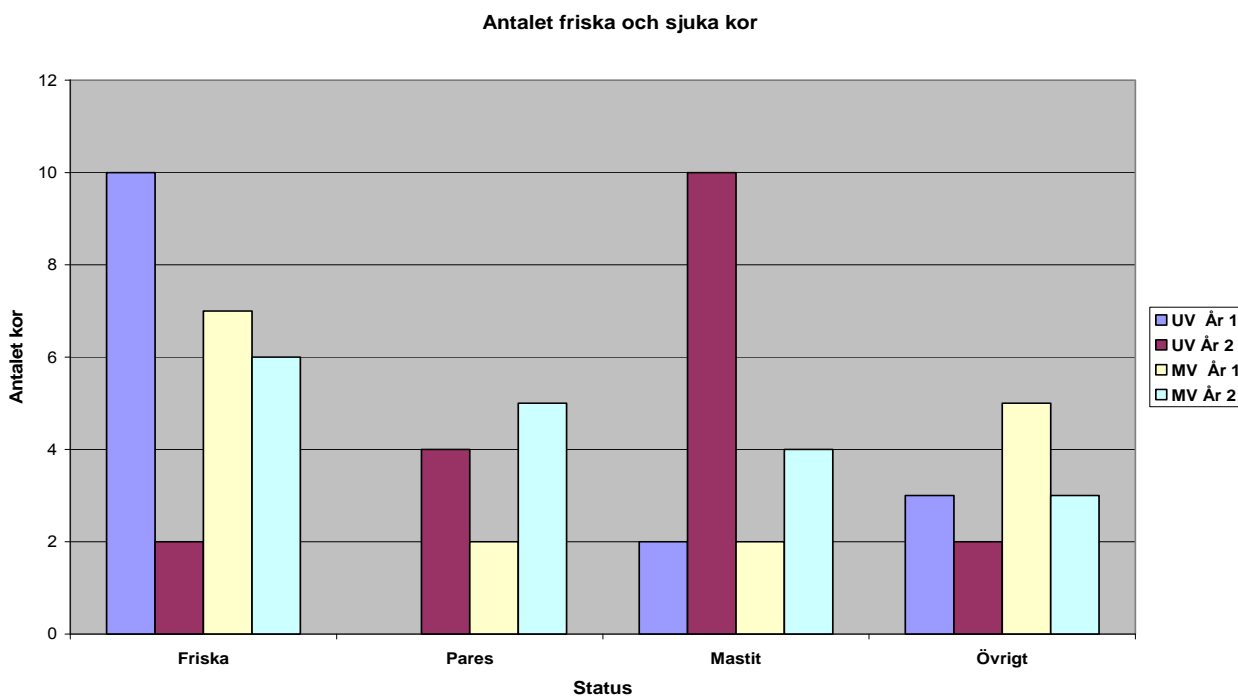
5.3 Hälsa och fruktsamhet

I UV-gruppen ökade antalet mastiter och pareser från år 1 till år 2 samtidigt som antalet friska kor minskade. År 2 fanns en tendens till färre friska kor i UV-gruppen och signifikant fler kor med mastit jämfört med MV-gruppen (Tabell 15; Figur 16). I analysen användes alla kor som deltagit båda åren.

Tabell 15. Antalet (%) kor med olika hälsotillstånd hos de kor som fått (MV)/inte fått(UV) tillskott av vitamin D, n=15 (UV), n=14 (MV)

	År 1 – UV (n=15)	År 2 – UV (n=15)	Jfr år UV	År 1 – MV (n=14)	År 2 – MV (n=14)	Jfr år MV	Jfr UV / MV år 1	Jfr UV / MV år 2
Friska	10 (67)	2 (13)	0.004	7 (50)	6 (43)	NS	NS	(0.086)
Pares	0 (0)	4 (27)	0.050	2 (14)	5 (36)	NS	NS	NS
Mastit	2 (13)	10 (67)	0.004	2 (14)	4 (29)	NS	NS	0.046
Övrigt	3 (20)	2 (13)	NS	5 (36)	3 (21)	NS	NS	NS

ns, not significant = inte signifikant



Figur 16. Antal djur med olika hälsotillstånd år 1 jämfört med år 2 i grupp som fick (MV) och grupp som inte fick (UV) tillskott av vitamin D₃.

Antalet insemineringar per dräktighet var något fler i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen år 1. År 2 var antalet insemineringar istället något fler i MV-gruppen. Kalvningsintervallet och tomperiodens längd var något längre i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen båda åren förutom kalvningsintervallet för tjurbetäckta kor år 1 och tomperiodens längd år 1 (Tabell 16).

Tabell 16. Antal inseminationer per dräktighet, kalvningsintervallens längd samt tomperiodens längd (kalvning till 1:a insemination) i medeltal för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer

	Antal kor		Antal ins. per dräktighet		Kalvn.int. (mån)		Tomper. längd, (dag)	
	UV	MV	UV	MV	UV	MV	UV	MV
År 1								
Alla kor	18	19			12,7±1,9	12,4±1,3		
Seminerade kor	14	16	1,3±0,6	1,9±1,0	12,5±1,9	12,1±1,0	80±29	79±27
Tjurbetäckta kor	4	3			13,3±1,8	16,0±2,0		
År 2								
Alla kor	15	20			14,4±2,8	12,7±1,4		
Seminerade kor	10	16	1,9±1,0	1,8±1,0	13,5±2,2	12,8±1,5	114±41	103±31
Tjurbetäckta kor	5	4			15,4±3,3	12,4±1,0		

5.4 Vikt och hull

Vid ett tillfälle varje månad under försöksperiod år 1 vägdes och hullbedömdes korna. Samma person utförde vägning och hullbedömning. Bedömning av hull gjordes efter en 5-gradig skala där 1 var mycket mager och 5 var mycket fet. Den enda skillnaden mellan grupperna var äldre kor (laktation 4 och äldre) i UV-gruppen som hade en lägre hullpoäng i mitten av laktationen och i den senare delen av laktationen (Tabell 17 och 18).

Tabell 17. Medelvärden av kornas hullpoäng och vikt för de båda grupperna vid tre olika laktationsstadier: 1-3, 4-6 samt senare än 6 månader efter kalvning, andra laktationen 2003/2004 (år 1). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=25)

År 1	1-3 månader			4-6 månader			>6 månader		
	UV	MV	<i>P</i>	UV	MV	<i>P</i>	UV	MV	<i>P</i>
Hullpoäng ¹	2,75	2,93	0,469	2,96	3,13	0,447	3,10	3,33	0,255
Vikt (kg)	590	576	0,400	602	596	0,771	634	620	0,258

¹ enligt en skala från 1 till 5 (Edmonson *et al.*, 1989).

Tabell 18. Medelvärden av kornas hullpoäng och vikt för de båda grupperna vid tre olika laktationsstadier: 1-3, 4-6 samt senare än 6 månader efter kalvning, andra laktationen 2004/2005 (år 2). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=25)

År 2	1-3 månader			4-6 månader			>6 månader		
	UV	MV	<i>P</i>	UV	MV	<i>P</i>	UV	MV	<i>P</i>
Hullpoäng ¹	2,97	2,74	0,487	2,69	2,79	0,590	3,09	3,19	0,483
Vikt (kg)	602	581	0,365	594	604	0,648	646	640	0,773

¹ enligt en skala från 1 till 5 (Edmonson *et al.*, 1989).

6. Diskussion

Få studier har gjorts enligt vår vetenskap avseende utfodring utan tillskott av syntetiskt D-vitamin hos kor i Norden. De kor som ingick i denna studie har tillgodogjort sig vitaminer via solljus under betet och en grupp (MV) fick tillskott av vitamin D₃ i fodret. Växter innehåller formen vitamin D₂ vilket kor inte tycks utnyttja, däremot kan vitamin D₂ omvandlas till vitamin D₃ som sedan kan tas upp av djuret (Hymøller, 2008; Nadeu, 2008). Det största behovet täcks av att de vistas ute i solljus. Vi vet att alla kor under kalvning har mer eller mindre hypokalcemi, brist på kalcium som ett resultat av vitamin D brist (Horst *et al.*, 1997). Korna har även olika individuella behov som under kalvning är extremt svåra att tillgodose.

Korna i MV-gruppen fick även tillskott av vitamin A och E vilket visade att under tiden vid kalvning ökade behovet av dessa vitaminer (Johansson *et al.*, 2007). Vitamin A och vitamin E är viktiga för kons immunförsvar vilket kan ha inverkan på juverhälsan och hälsan i övrigt för de kor som fick tillskott av syntetiskt vitamin D. Eftersom vitamin A verkar antagonistiskt på vitamin D på så sätt att det tar bort effekten av vitamin D kan korna ha påverkats negativt vid kalvning och därefter utvecklat kalvningsförslamning. Det finns också en problematik i så fall att jämföra MV- och UV-grupperna då de har haft olika förutsättningar vid t.ex. betessläpp. MV-gruppen kan ha påverkats negativt så att kornas värden av 25(OH)D₃ i plasma var lägre än om de inte hade fått vitamin A. Korna i UV-gruppen kan ha påverkats positivt av att inte ha fått vitamin A trots att de hade betydligt lägre värden i plasma av 25(OH)D₃ än MV-gruppen.

6.1 Värden i plasma

Den här studien har visat att det fanns signifikanta skillnader i nivån av 25(OH)D₃ i plasma mellan UV- och MV-gruppen. Under tiden december-juni både år 1 och 2 så hade kor i UV-gruppen en koncentration på under 5 ng/ml. Detta kan förklaras med att korna är installerade från oktober till maj och därför inte har tillgång till solljus. Både år 1 och 2 hade UV-gruppen tre veckor efter kalvning en koncentration på under 5 ng/ml plasma vilket kan bero att de flesta kalvningar sker under installationsperioden. Andra året hade UV-gruppen även vid kalvning en koncentration under 5 ng/ml. UV-gruppens nivå i plasma kan jämföras med resultat från studier av Horst *et al.*, (1994) där kor som visade vitamin D brist hade en koncentration under 5 ng/ml i plasma. Under kalvning och vid bildning av råmjölk är korna utsatta för en stor påfrestning. Extra kalcium behövs till muskelkontraktioner vid kalvning och kalcium ska överföras till mjölken från kons kalciumdepåer vilket har inverkan på koncentrationen i plasma.

I juni ökade koncentrationen 25(OH)D₃ i både UV- och MV-gruppen vilket tros bero på det solljus korna utsattes för vid betessläpp. Liknande resultat visas av Hidiroglou *et al.*, (1979) där kvigor fick tillskott av vitamin D₃. De högsta koncentrationerna finns hos korna 7-9 månader efter kalvning och kan bero på att nästan alla kor befinner sig på sommarbete. Den signifikanta skillnaden mellan vinter och sommar inom båda grupperna tyder på att produktion av endogent vitamin D via solljus är en mycket viktig källa för att täcka behovet. Detta stöds även av att det under sommaren inte finns några signifikanta skillnader i koncentrationen av 25(OH)D₃ mellan UV- och MV-gruppen (Hymøller, 2008). Det endogent producerade vitamin D under sommaren lagras dessvärre inte tillräckligt länge för att kunna täcka behovet under installationsperiodens senare del. Ser man till sommarhalvåret när korna betar utomhus finns inget extra behov av vitamin D. Däremot

finns ett behov under installningsperioden av D-vitamin tillskott i foderstaten åt kor. De flesta av korna i vårt försök var i sent laktationsstadium under sommaren då mjölkkor normalt har högre nivå av vitaminer i plasma jämfört med när kon är i tidig laktation så den högre nivån av D-vitamin i plasma på sommaren (jämfört med vintern) kan även vara en effekt som inte beror enbart av solljuset utan även av laktationsstadium (Hidioglou *et al.*, 1979).

6.2 Hälsa och Fruktsamhet

De kor i vårt försök som fick kalvningsförflamning hade precis som i studien av Horst *et al.*, (1994) en koncentration av 25(OH)D₃ under 5 ng/ml. Av de kor som deltog båda åren var det ingen i UV-gruppen som fick kalvningsförflamning det första året, däremot var det två kor i MV-gruppen som drabbades. Det andra året drabbades fyra av korna i UV-gruppen och fem i MV-gruppen. Resultatet är anmärkningsvärt då korna i MV-gruppen fick tillskott av vitamin D. Det kan bero att vitamin A tar bort effekten av vitamin D och att kalvningarna har skett under installningsperioden och att de därför svarade dåligt på tillskottet. Att kor drabbas av kalvningsförflamning behöver inte uteslutande bero på vitamin D brist utan kan bero på naturliga orsaker som t.ex. felaktiga hormonreceptorer som inte känner igen hormoner eller som binder svagt (Horst *et al.*, 1994).

Antalet friska kor minskade år 2 i gruppen som inte fick tillskott av vitamin D. Vi vet att vitamin A, D, E har en inverkan på hälsan och immunförsvaret. Vitamin E fungerar som en antioxidant och skyddar fettsyror mot oxidation (McDonald *et al.*, 2002). Även vitamin A har en viktig roll i immunförsvaret och stimulerar till ett mer effektivt försvar mot främmande mikroorganismer och deras toxiner. Vitamin D stimulerar immunförsvaret att eliminera mikroorganismer och toxiner vilket är viktigt t.ex. vid kalvning då kon är utsatt för en ökad stress och då är mer mottaglig för infektioner (Kimura *et al.*, 2006). Fler kor i UV-gruppen utvecklade mastit andra året än kor i MV-gruppen vilket kan vara en effekt av att de inte fick E-vitamin (Tabell 15). Intag av vitamin E tillsammans med selen kortar ner sjukdomsförloppet och lindrar symptomen (Persson Waller, 2001).

Antalet insemineringar per dräktighet ökade bland kor i UV-gruppen från första till andra året. I MV-gruppen minskade antalet insemineringar per dräktighet något. Ward *et al.*, (1971) har i ett försök visat att kor som en gång i veckan utfodrats med lucernhö koncentrat innehållande (med deras beräkningar) ca 300 000 IE vitamin D₃ fick ägglossning 16 dagar tidigare än de kor som inte fick lucernhö koncentratet. Det är intressant då personalen på Tingvall tyckte att korna som inte fick syntetiskt vitamin visade sämre brunst än korna som fick syntetiskt vitamin D (Hedlund, 2006). Det är av intresse att veta ifall vitamin D påverkar brunsten att vara tydligare vid insemineringar eller för betäckning med tjur. Kalvningsintervallet och tomperiodens längd var något längre i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen vilket tyder på att vitamin E, D eller β -karoten kan ge en snabbare återhämtning generellt.

6.3 Mjölproduktion

Den allt högre mjölkavkastningen hos kor leder till att kroppens fysiologiska system inte hinner utvecklas i samma takt vilket kan leda till bl.a. kalvningsförflamning. Kor har en betydligt högre mjölkavkastning idag jämfört med för bara 10-20 år sedan vilket gör det svårare att möta det ökade näringsbehovet som kan leda till olika bristsjukdomar. Mjölkanalyserna i detta försök visar inga signifikanta skillnader mellan UV- och MV-gruppen med avseende på mjölkavkastning, protein- och fetthalt, celltal eller urea (Tabell 13-14). En anledning kan vara att kor under kalvning och vid mjölknedsläpp avsätter alla fysiologiska resurser för att klara kalvning och kunna ge kalven rätt sammansättning på

mjölk. Första året hade kor som fick tillskott av syntetiskt vitamin D högre celltal i mjölken än de kor som inte fick tillskott av syntetiskt vitamin D. Andra året hade kor i UV-gruppen högre celltal än kor i MV-gruppen.

6.4 Andra D-vitamin källor?

Vitamin D produceras av solens UVB-strålar antingen i huden eller hos svampar, mögel eller jäst som lever på grovfodret (Hidiroglou et al., 1979; Holick, 2004). Naturliga källor är annars animaliska som inte är ett alternativ till växtätande produktionsdjur p.g.a. risken för bl.a. galna kosjukan. Generellt utnyttjar kor vitamin D₃ bättre vilket gör det svårare att hitta andra D-vitamin källor. Utevistelse tycks inte spela någon större roll under vintern eftersom de viktiga UVB-strålarna inte når till våra breddgrader i nordnorden och således inte kan utnyttjas av korna (Mikkelsen, 2006). Solens UVB-strålning ger den bästa produktionen av vitamin D.

I vårt försök studerades även effekter av syntetiskt tillskott av vitamin A och E vilket inte visade stora skillnader mellan MV- och UV-gruppen. Det är möjligt att kor kan utnyttja de naturliga vitaminerna A och E i fodret men att de inte kan utnyttja vitamin D₂ som finns i växter. Är det i så fall en gammal förlegad sanning att hö är bättre för kor för att det solbestrålats? Det skulle även vara intressant med en studie där olika grupper av matchade kor fick tillskott av enbart vitamin D, respektive E och β -karotin. Den mängd vitamin D som injiceras under kalvning om kon fått kalvningsförslamning är farligt nära den mängd som är toxiskt för kon. Det är därför av stor vikt med liknande studier som denna för att få fram hur mycket och vid vilka tillfällen kor bör få tillskott av syntetiskt framställt vitamin D.

6.5 Provhantering och analysteknik

Mycket kan påverka vitaminhalterna i proverna från blodprovstagningen till att plasmaproverna analyseras. Plasmaproverna som analyserades med avseende på vitamin D har även använts till att analysera fram andra vitaminer som t.ex. vitamin A och E. Det innebär att proverna frusits ner och tinats i omgångar. Några av våra prover innehöll så lite plasma att HPLC inte kunde ge ett säkert resultat. Att vissa prover var lite röda eller innehöll en seg massa bestående av fibrinogen el. dylikt ska inte ha någon betydelse för resultatet eftersom det inte påverkar koncentrationen av vitamin D i provet. Kor som är stressade vid blodprovstagningen kan lämna sådana prover. Av de prover vi analyserade visade sig 3 prover mjölklika då de skulle saponifieras och vi vet inte om det har påverkat resultatet. Andra faktorer som kan påverka resultatet är den tekniska utrustningen som är mycket känslig och specifik för ändamålet. Den kan skilja sig från labb till labb. Även hur utrustningen används och vem som använder den har betydelse för resultatet. Vilka kemikalier som används, vilken mängd och tidsfaktorn är också faktorer som spelar in (Hymøller, 2008).

7. Slutsats

Den här studien har visat att kor i ekologisk uppfödning i Norden behöver tillskott av vitamin D₃. Vid kalvningen är korna under hög påfrestning och nivån av 25(OH)D₃ i plasma påverkas inte av tillskott av syntetiskt vitamin D₃, men redan tre veckor efter kalvningen ger tillskottet en positiv effekt på plasmakoncentrationen som verkar kvarstå genom laktationen. Kor som stallas in under vintermånaderna får inte tillräckligt med solljus för att täcka behovet av vitamin D₃. Kor som fick tillskott av vitamin D₃ var friskare. Antalet kalvningsförlamningar ökade andra året för de kor som inte fick vitamin D. Koncentrationen 25(OH)D₃ i plasma ökar med ökad utsatthet för solens UVB-strålar.

8. Litteraturförteckning

Abbas, A. K. & Lichtman, A. H. 2004. Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system. Second edition. Elsevier Inc. Philadelphia. USA.

Astrup, H. N. & Nedkvitne, J. J. 1987. Effects of vitamin D supplement on cows and sheep. Norwegian Journal of agricultural sciences 1: 87-95.

Barton, B. A., Jorgensen, N. A. & DeLuca, H. F. 1987. Impact of prepartum dietary phosphorus intake on calcium homeostasis at parturition. J. Dairy Sci. 70:1186-1191.

Calsson, J. 2000. Vitaminer till nötkreatur i ekologisk produktion. Jordbruksinformation 6, Jordbruksverket, Jönköping. Stencil 10 sidor.

Carlsson, J., Jerre, S., Kyldén, U., Lundén, A., Nygren, C. & Waldner, J. 1983. Vitamin D. Svensk veterinärtidning, 35, 7. s. 421-426.

Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. & Webster, G.A. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. J. Dairy Sci., 72: 68.78

Eu-förordning nr 1804/1999. Användning av syntetiska vitaminer inom ekologisk produktion.

Frame, J. 1993. Herbage mass. In: Davis, A., Baker, R. D., Grant, S. A. and Laidlaw, A. S. (eds.) Sward Measurement Handbook. British Grassland Society, Rading. S. 39-67.

Goff, J. P., Littledike, E. T & Horst, R. L. 1986. Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: prevention of hypocalcemic parturient paresis. J Dairy Sci 69:2278.

Goff, J. P., Kehrl, M. E & Horst, R. L. 1989. Periparturient hypocalcemia in cows: prevention using intramuscular parathyroid hormone. J Dairy Sci. 72:1182.

Goff, J. P., Reinhardt, T.A. & Horst, R.L. 1990. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. J. Dairy Sci 74:4022-4032.

Goff, J. P., Horst, R. L., Mueller, F. J., Miller, J. K., Kiess, G. A. & Dowlen, H. H. 1991. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. J. Dairy Sci. 74:3863.

Goff, J. P. & Reinhardt, T. A. 1994. Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. J. Dairy Sci. 77:1451.

Goff, J. P., Reinhardt, T. A. & Horst, R. L. 1995. Milkfever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient cows. J. Dairy Sci. 78:2388-2394.

Goff, J. P., Reinhardt, T. A., Beitz, D. B. & Horst, R. L. 1995. Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in periparturient dairy cows: a milk fever risk factor? J. dairy Sci. 78(Suppl. 1) :184

- Green, H.B., Horst R. L., Beitz, D. C. & Littledike, E. T. 1981. Vitamin D Metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. *J. dairy Sci.* 64:217-226
- Hidioglou, M., Proulx, J.P. & Roubos, D. 1979. 25-Hydroxyvitamin D in plasma of cattle. *J. Dairy. Sci* 62:1076-1080.
- Holick, M. 2004. Sunlight and vitamin D for bone health and for prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease¹⁻⁴. *Am J clin nutr* 80(suppl):1678S-1688S.
- Horst, R. L., Jorgensen, N. A. & DeLuca, H. F. 1978. Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in parturient dairy cows. *Am. J. Physiol.* 235:E634.
- Horst, R. L., Littledike, E. T., Riley, J. L. & Napoli, J. L. 1981. Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentrations in five species of animals. *Analytical Biochemistry* 116, 189-203.
- Horst, R. L. & Jorgensen, N. A. 1982. Elevated plasma cortisol during induced or spontaneous hypocalcemia in ruminants. *J. Dairy Sci.* 65:2332-2337.
- Horst, R. L., Napoli, J. L. & Littledike, E. T. 1982. Discrimination in the metabolism of orally dosed ergocalciferol and cholecalciferol by the pig, rat and chick. *Biochem. J.* 204:185-189.
- Horst, R.L. & Reinhardt, T.A. 1983. Vitamin D Metabolism in Ruminants and Its Relevance to the periparturient cow. *J. Dairy Sci.* 66:661-678.
- Horst, R. L., Goff, J. P. & Reinhardt, T. A. 1994. Symposium: Calcium metabolism and utilization. Calcium and Vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci* 77: 1936 – 1951.
- Horst, R. L., Goff, J. P., Reinhardt, T. A. & Buxton, D. R. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 80:1269-1280.
- Horton, R. H., Moran, L. A., Ochs, R. S., Rawn, J. D. & Scrimgeour, K. G. 1996. *Principles of biochemistry*. 6 ed. Prentice-Hall inc. USA.
- Johansson; B., Nadeau, E., Jensen, S.K. & Persson Waller, K. 2007. Vitaminförsörjning till mjölkkor i ekologisk produktion. Ekologisk mjölkproduktion med 100% ekologiskt foder på Tingvalls försöksgård. Slutredovisning till Jordbruksverket av projekt med diarienummer 25 – 1367/03.
- Kimura, K., Reinhardt, T.A. & Goff, J.P. 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2588-2595.
- Littledike, E. T. & Horst, R. L. 1982. Vitamin D₃ toxicity in dairy cows. *J Dairy Sci* 65:749-759.
- Machlin, L. J. 1991. *Handbook of vitamins*. Marcel Dekker inc. USA. s. 61-98

McDermott, C.M., Beitz, D.C., Littledike, E.T. & Horst, R.L. 1985. Effects of dietary vitamin D₃ on concentrations of vitamin D and its metabolites in blood plasma and milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68:1959-1967

McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh. & Morgan, C.A. 2002. *Animal Nutrition*. Ashford Colour Press Ltd. Gosport. S. 81-84

Mikkelsen, L. K. 2006. Natural vitamin D supply in organic dairy production. Department of Large Animal Sciences-The Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark.

Nadeau, E., Johansson, B., Krogh Jensen, S. & Olsson, G. 2000. Skördemetodens och lagringens betydelse för vitamininnehållet i ensilage och mjölk på ekologiska mjölkgrårdar Slutredovisning till Jordbruksverket av FoU-projekt med diarienummer 25-5152/00.

NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 2001. National academic press, 2000 p. 164-166. Washington DC, USA.

Olrog, L., Arnesson, A. & Johansson, B. 2002. Ekologisk drift på Tingvall 1990-2002. Växtodling och mjölkproduktion. Hushållningssällskapet, SLU.

Persson Waller, K. 2001.Utfodringens och immunförsvarets betydelse för uppkomsten av mastit runt kalvning. Konferensrapport. Svensk mjölks djurhälso- och utfodringskonferens, 21-23 augusti, Linköping.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. & Moore P.K. 2003. *Pharmacology*. Bath press. UK. s.450-451.

Reinhardt, T. A. & Hustmyer, F. G. 1987. Role of vitamin D in the immune system. *J. Dairy Sci* 70:952-962.

Reinhardt, T. A. & Horst, R. L. 1989. Self induction of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ metabolism limits receptor occupancy and target tissue responsiveness. *J. Biol. Chem.* 264:15917-15921.

Sachs, M., Bar, A., Cohen, R., Mazur, Y., Mayer, E. & Hurwitz, S. 1977. Use of 1 α -hydroxycholecalciferol in the prevention of bovine parturient paresis. *Can J Plant Sci* 55:691

Silverthorn, D.U. 2001. *Human physiology. An integrated approach*. 2 ed. Prentice hall. Upper saddle river, New Jersey.

Statens jordbruksverks författningssamling (SJVFS) nr: 2005:92 Tillåtelse att tillföra syntetiskt framställda vitaminer till foder åt idisslare.

Spörndly, R. 2003. Fodertabeller för idisslare. Rapport 247. SLU. Uppsala.

Tangpricha, V., Turner, A., Spina, C., Decastro, S., Chen, T.C. & Holick, M.F. 2004. Tanning is associated with optimal vitamin D status (serum 25-hydroxivitamin D concentration) and higher bone mineral intensity¹⁻³. *Am J clin nutr* 80:1645-1649

Ward, G., Marion. G. B., Campbell, C. W. & Dunham, J. R. 1971. Influences of calcium intake and vitamin D supplementation on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 54:204-206.

Weiss, W.P. 1998. Requirements of Fat-soluble vitamins for dairy cows: A Review^{1,2} J. Dairy Sci. 81:2493-2501

Muntliga:

Hedlund, E. 2006. Ladugårdsförman på Tingvalls gård.

Hymøller, L. 2008. University of aarhus. Faculty of agricultural sciences. Dept of animal health, welfare and nutrition. Blichers Allé 20, P.O Box 50, DK 8830 Tjele.

Jensen, S. K. 2007. Senior scientist. University of aarhus. Faculty of agricultural sciences. Dept of animal health, welfare and nutrition. Blichers Allé 20, P.O. Box 50 DK 8830 Tjele

Nadeau, E. 2008. Forskningsledare. Inst för husdjurens miljö och hälsa. Box 234, 532 23 Skara.

Nordholm, H. 2008. Utveckling, Lantmännen Doggy AB, 44784 Vårgårda.

Internetkällor:

Information från kemikontoret.

Kemifakta 1998. Nr 9.

[http://www.plastkemiforetagen.se/Publikationer/PDF/Kemifakta_9.pdf] 20080428

NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 2001. Washington, DC, USA: Natiional Academies Press. 2000. p 186-201.

[<http://site.ebrary.com/lib/slub/Doc?id=10032374&ppg=188>] 20080301

[<http://site.ebrary.com/lib/slub/Doc?id=10032374&ppg=189>] 20080301

Statens Jordbruksverk, författningar:

Förbud mot utfodring med animaliskt bearbetat protein till idisslare enligt EU:s tvärvillkor 2007.

[http://www.sjv.se/download/18.d1afd31104979e5ae80002545/JS12_Tvarvillkor_L.pdf] 2008-08-10

Vitaminer till idisslare i ekologisk produktion.

[<http://www.sjv.se/download/18.e1469c10f5834b42b8000383/2006-083.pdf>] 2008-08-10

Wikipedia, figur av cellen

[http://en.wikipedia.org/wiki/Biological_cell] 20080518

Andersson, M. 2007. Svensk mykologisk tidskrift 28:3 (2007)

[http://www.svampar.se/bildarkiv/SMT_2007_3_Svamp%20och%20D_vitamin.pdf] 2008-08-10

Vid **Institutionen för husdjurens miljö och hälsa** finns tre publikationsserier:

- * **Avhandlingar:** Här publiceras masters- och licentiatavhandlingar
- * **Rapporter:** Här publiceras olika typer av vetenskapliga rapporter från institutionen.
- * **Studentarbeten:** Här publiceras olika typer av studentarbeten, bl.a. examensarbeten, vanligtvis omfattande 7,5-30 hp. Studentarbeten ingår som en obligatorisk del i olika program och syftar till att under handledning ge den studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Arbetenas innehåll, resultat och slutsatser bör således bedömas mot denna bakgrund.

Vill du veta mer om institutionens publikationer kan du hitta det här:
www.hmh.slu.se

DISTRIBUTION:

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Box 234
532 23 Skara
Tel 0511-67000
E-post: hmh@slu.se
Hemsida: www.hmh.slu.se

*Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal
Science
Department of Animal Environment and Health
P.O.B. 234
SE-532 23 Skara, Sweden
Phone: +46 (0)511 67000
E-mail: hmh@slu.se
Homepage: www.hmh.slu.se*
