



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science

Råproteinförändringar i timotej och rödklöver

Linnéa Arrhén

Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, **436**

Uppsala 2013

Degree project / Swedish University of Agricultural Sciences,
Department of Animal Nutrition and Management, **436**

Examensarbete, 15 hp
Kandidatarbete
Husdjursvetenskap
Degree project, 15 hp
Bachelor Thesis
Animal Science



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science
Department of Animal Nutrition and Management

Råproteinförändringar i timotej och rödklöver

Changes of crude protein in timothy and red clover

Linnéa Arrhén

Handledare: Torsten Eriksson
Supervisor:
Ämnesansvarig: Peter Udén
Subject responsibility:
Examinator: Jan Bertilsson
Examiner:
Omfattning: 15 hp
Extent:
Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap
Course title:
Kurskod: EX0553
Course code:
Program: Husdjursvetenskap - kandidatprogram
Programme:
Nivå: Grund G2E
Level:
Utgivningsort: Uppsala
Place of publication:
Utgivningsår: 2013
Year of publication:
Serienamn, delnr: Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, 436
Series name, part No:
On-line publicering:
On-line published: <http://epsilon.slu.se>
Nyckelord: Råprotein, timotej, vall, rödklöver
Key words:

Sammanfattning

Protein i foder utnyttjas av idisslaren via upptag av mikroprotein i tunntarmen eller som foderprotein som passerat vommen vidare till tunntarmen. Olika råproteinnivåer i foder till idisslare påverkar både miljön och djurens avkastning. Råprotein från vallväxter kan analytiskt delas upp i olika fraktioner utefter var i idisslaren det bryts ned och kan tillgodogöras. Ett sådant system är The Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) vilket delar in protein i fraktionerna A, B och C utefter deras nedbrytningshastighet i vommen. Många olika faktorer kan påverka halt och sammansättning av råprotein i vallfoder. Några påverkande faktorer som studeras i detta arbete är skördetidpunkt, kvävegödslingsnivå och miljöförhållanden. Timotej och rödklöver är de växter som studeras närmare men även blandvallar innehållande de två arterna tas upp. Viss skillnad finns mellan rödklöver och timotej men det generella mönstret är detsamma. Nivåerna av råprotein sjunker och även smältbarheten av kväve minskar med en senare skörd. En ökad mognad och högre kvävegödslingsnivå leder generellt till ökad andelen icke-proteinkväve, fraktion A medan det för det sanna proteinet, fraktion B, sker en andelsförskjutning från lättsmält till mer svårsmält med högre mognad och lägre kvävenivå. Det otillgängliga kvävet, fraktion C, ökar i andel med ökad mognad och mindre kvävegödsling. Rödklöver har över lag högre nivåer av råprotein och minskningen med tilltagande utvecklingsstadium är långsammare för rödklöver än för timotej.

Abstract

The ruminant utilizes the feed protein either by uptake of microbial protein in the intestines, or as rumen escape protein which is feed protein that proceed to the intestines. The levels of crude protein affect both the environment and the performance of the animal. The nitrogen in plants can be analyzed as crude protein which can be further separated into fractions with degradation properties. The Cornell Net Carbohydrate And Protein System (CNCPS) is an example of such a system. It splits the crude protein into three fractions A, B and C according to their degradation rate. There are many components that contribute to the crude protein concentration and degradation characteristics in forage and some of them are further investigated in this review. The maturity, application rate of nitrogen fertilizer, temperature and light is investigated for timothy and red clover. Some differences are visible between red clover and timothy but the overall pattern was the same. The crude protein content decrease with a higher level of maturity. Also the degradation of nitrogen decrease with a later harvest. With a higher level of maturity did non-protein nitrogen, the fraction A, increase in proportion but a shift in proportion from rapid to slowly degradation happens for true protein, fraction B. Protein unavailable for the ruminant, fraction C, increase in proportion both over time and with less fertilization. The crude protein level is higher for the red clover than for timothy and the decrease in crude protein concentration with advancing maturity was also slower for red clover.

Introduktion

Idisslarens fysiologi

Idisslare har två behov av kväve (N) att tillfredsställa, det för mikroorganismernas vomfermentation samt kons eget behov av proteinupptag i tarmarna (Schwab et al. 2005). Kväve i foder kan delas upp mellan potentiellt smältbart och osmältbart. Vid en vald passagehastighet kan protein klassas som vomnedbrytbart (RDP) eller icke vomnedbrytbart (RUP) vilket syftar på den effektiva vomnedbrytbarheten. Fraktionen RDP nyttjas antingen i mikroproteinbiosyntesen eller absorberas via vomväggen som ammoniak (NH_3). Brist på RDP begränsar

mikrobproteinsyntesen vilket leder till minskad digestion av fiber (McDonald et al, 2011). Proteinnutitionen hos idisslare syftar till att upprätthålla önskad produktion hos djuret med minsta möjliga mängd råprotein i fodret (NRC, 2001).

Råprotein (RP) beräknas som mängd kväve i foder * 6,25 (McDonald et al, 2011). Det RP som bryts ned i vommen bildar en blandning av fria aminosyror, peptider och ammoniak som används av mikroorganismer vid syntes av mikrobprotein. Flera faktorer påverkar hur stor andel av RP som bryts ned i vommen. Bland annat fördelningen mellan icke-proteinkväve och sant protein, kemiska och strukturella egenskaper hos de olika sanna proteinerna, passagehastighet, vommens pH och mikrobernas proteolytiska aktivitet (NRC, 2001). Generellt bryts ca 75 % av proteinet från foder ned i vommen och 25 % fortsätter som bypass-protein till tarmaren (Merchen & Bourquin, 1994). Enligt samma författare avtar proteinets vommedbrytbarhet med tilltagande utvecklingsstadium.

Syntes av mikrobprotein kräver en balans mellan mängden kolhydrater och protein som finns tillgängligt. Czerkawski (1986) föreslog en balans på 25 g N/kg tillgängliga kolhydrater medan Tamminga et al. (1994) föreslog ett förhållande på 50:1 vilket innebär ca 20 g N/kg kolhydrater. Vid ett överskott av RDP leder det till överskott av ammoniak som omvandlas till urea och utsöndras via urinen (Varel et al., 1999). Ett överskott av råprotein (RP) är även en kostnadsfråga då ett överskott leder till dåligt kväveutnyttjande hos kon och proteintillskott är ofta kostsamma (Broderick, 2003). Överutfodring av RP kan även leda till sämre fertilitet (Rajala-Schultz et al., 2001), ökade nivåer av urea och icke-proteinkväve i mjölken, (Broderick, 2003), ökade urinvolym (Leonardi et al., 2003), ökade nivåer av kväve i urinen (Varel et al., 1999) och kan ge minskad mängd mjölkprotein (Leonardi et al., 2003). En för låg nivå av RDP kan å andra sidan leda till reducerad nedbrytning av kolhydrater, framförallt fiber (Klevesahl et al., 2003), minskad syntes av mikrobprotein (Griswold et al., 2003), minskat torrsustansintag (Wheeler et al., 2002) och i slutänden en minskad mjölkproduktion (Canfield et al., 1990).

Exakt vilken nivå RP-koncentrationen ska ligga på för optimalt utnyttjande har inte kunnat fastställas (Schwab et al. 2005). Law et al (2009) såg att med en hög RP koncentration (17,3%) i början av laktationen kunde man efter 150 dagars laktation sänka RP-nivån till 14,4 % utan att mjölkavkastningen förändrades. Colmenero & Broderick (2006a) försökte beräkna den optimala RP-halten i foderstaten med avseende på mjölkproduktion, mjölkprotein och minimal utsöndring av kväve via träck och urin. Optimala nivåer av RP med hänsyn till mjölkavkastning och mjölkprotein var 16,5 %. Colmenero & Broderick (2006b) såg även att 16,5 % RP gav maximalt flöde av mikrobprotein och icke-ammoniakkväve från vommen till tarmarna. Enligt NRC (2001) kan maximal mjölkprotein-produktion uppnås vid en RP-koncentration på 22 % men Colmenero & Broderick (2006a) uppnådde maximal proteinavkastning vid 17,1 %. För RUP har NRC (2001) en rekommendation på 35 % RUP av totalt RP vid en avkastning på 35 kg mjölk/ dag. Andra faktorer än nivå och sammansättning av protein påverkar också utbytet av foderstaten, till exempel genom att en högre fiberhalt ger ett lägre foderintag (Merchen & Bourquin, 1994).

Miljö

Ledgard et al. (1997) har i England, Holland och Nya Zeeland under åren 1983-88, 1991 och 1995-96 beräknat mängden kväve som sätts in i ett gårdssystem och mängden kväve som fås ut i form av mjölk och kött. Studien visade ett samband mellan mängd insatt kväve, framförallt genom gödsling, och kväveöverskott i systemet. Ju mer kväve som tillfördes, desto större blev överskottet.

Förluster av kväve sker genom obalans mellan kolhydrater och protein i vommen, med endogena proteiner som utsöndras i tunntarmen och som post-absorptiva förluster inne i djurets kropp (Tamminga, 1996). Ett överskott av RDP gör att mer protein förloras. När RP-koncentrationen stiger över 15,5 % av foderstatens ts förloras via vommen ca 80 % av den ”extra” andelen kväve. Mognadsgrad av gräs påverkar utnyttjandet av kväve. Minskningen av RP vid ökad mognadsgrad i vallväxter går snabbare än förändringen mot mer svårsmälta kolhydrater. Med ett mer moget gräs minskar även proteinets vommedbrytbarhet. Detta leder till att mer protein passerar vidare till tarmarna men även till en minskning av totalt tillgängligt kväve, eftersom tarmsmältbarheten också sjunker. Förlusterna av kväve flyttas då från vommen till mer endogena förluster vilka avges via träck. Kväve i urinen jämfört med kväve i träck ses som ett större miljöproblem då det snabbt hydrolyseras till ammoniak (Tamminga, 1996).

I Nederländerna har det beräknats att en mjölkko som fodras enligt rekommendationer (DVE/OEB systemet) har ett effektivt kväveutnyttjande på strax under 30 % om kon finns kvar så länge som 9 laktationer. Med två laktationer, vilket är vanligare i Sverige sjunker kväveutnyttjandet till någonstans mellan 20-24 % beroende på avkastningsnivå (Tamminga, 1996). En högre mjölkproduktion än 10 000 kg/år ledde inte heller till effektivare utnyttjande utom om kon bara behölls en laktation. Huhtanen et al. (2008) fann i en meta-analys en liknande nivå för det generella kväveutnyttjandet (beräknat genom kväve i mjölk/kväveintag från foder) om ca 28 % (277 g/kg) vid ett medelvärde av 16,5% RP i foderstaten. De fann även en negativ korrelation mellan kväveeffektiviteten och dagsintaget av smältbart RP. En högre RP-koncentration i foderstaten ledde också till en sämre effektivitet. Koncentrationen av stärkelse, NDF och enkla socker hade dock en mindre påverkan på effektiviteten och data tydde på att en kraftfoderandel i intervallet 35-50 % gav bäst resultat. Produktionsnivån hade liten effekt på kväveutnyttjandet och Huhtanen et al. (2008) föreslår att foderstatens sammansättning har mycket större betydelse. En bättre försörjning med smältbart protein till tunntarmen utan ökad proteinbalansen i vommen (PBV) skulle ge en bättre effektivitet utan att mjölmängden påverkades negativt.

Växtfysiologi

De olika växtdelarna hos vallväxterna, såsom stjälk och blad har olika kemisk sammansättning och smältbarhet. Stjälken består ofta till större del av fiber och har en lägre smältbarhet medan bladen har en större andel protein och högre smältbarhet. Över tid ökar andelen lignin och cellvägg hos växten i motsats till lösliga kolhydrater som minskar. Med ökad mognad blir andelen stjälk större och skillnaden i kemisk sammansättning blir ofta mer accentuerad. Ofta är skillnaden i sammansättning mellan blad och stjälk större hos baljväxter än hos gräs. Baljväxter innehåller ofta en mindre andel cellväggar men mer lignin jämfört med gräs vid samma mognadsstadium. Den högre andelen lignin gör att baljväxter ofta har en lägre smältbarhet av cellväggar (Merchen & Bourquin, 1994). Större delen av proteinet i växter består av enzymer som behövs i växtprocessen och fotosyntesen (Van Vuuren, 1993). I ett ungt gräs är proteinkoncentrationen högre än hos ett mer moget gräs. Att proteinkoncentrationen minskar beror dels på en generell minskning av protein i både blad och stjälk men även på att stjälken som blir en allt större andel av växten, har en lägre koncentration av protein (Buxton, 1996).

Mangan (1982) delar upp växtproteiner i tre gruppen: 1) bladprotein, 2) en blandning av enzym och 3) membranprotein från kloroplasten. Grupp 1 består i princip enbart av enzymet ribulos-1,5-bisfosfatkarboxylas (Rubisco) vilket är det första enzymet i citronsyracykeln. Den har sitt ursprung från kloroplaster i bladen. Enzymet har en hög nedbrytningshastighet i vommen och

står för en större andel av det protein som finns i växten. Grupp 2 består av en blandning av olika enzymer från kloroplasten och cytoplasman. Det har en lite lägre nedbrytningshastighet jämfört med grupp 1 och kan till viss del vara bypass-protein. Grupp 3 är protein från kloroplastens membran (Thylakoidmembran). De består till större delen av två proteinkomplex och är olösliga i vatten. Det finns även protein i växtcellens kärna, cellväggarna och i mitokondrierna. Proteinet i cellväggarna är bundet till cellulosa och bryts ned långsamt. Det finns även i växten fria aminosyror vilka bland annat står för kvävetransport. Fria aminosyror är lösliga i vatten och bidrar till kvävetillförseln till mikroorganismerna (Mangan, 1982). Processning av gräset innan det fodras till djuren kan kraftigt påverka växtproteinet. Grabber (2008) hade för rödklöver 33 % lösligt protein i hö jämfört med 51 % i ensilage. Ensilering omvandlar en del av det sanna proteinet till icke-proteinkväve på grund av aktiva enzymer (NRC, 2001).

Analyssystem av protein i foder

Det finns en mängd olika analysystem för foder. Vissa kan användas för att klassificera protein i olika fraktioner utefter dess nedbrytningsbarhet i idisslare och en typ kommer beskrivas nedan.

The Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS)

Enligt CNCPS klassificeras foderprotein i tre fraktioner efter deras nedbrytningshastighet i vommen: A, B och C. Fraktion A består av icke-proteinkväve såsom ammoniak, fria aminosyror och peptider. Fraktion B består av sant protein och fraktion C av otillgängligt protein (protein kopplat till lignin, tannin-bundna proteiner och protein bundna till socker genom Maillard-reaktionen). Kategori B har tre subkategorier (B₁, B₂ och B₃) också uppdelade efter dess nedbrytningshastighet i vommen där B₁ bryts ned snabbast och B₃ är den med långsammast nedbrytning. Fraktionerna A och B₁ anses ha fullständig smältbarhet i vommen, B₂, B₃ är lösliga i vommen men kan delvis undvika nedbrytning i vommen och tas istället upp i tarmen (bypass-protein). En stor andel av fraktion B₃ undgår nedbrytning i vommen och smälts istället i tunntarmen. Fraktion C är ur en nutritionell synvinkel osmältbar och kan inte utnyttjas av kon. Fraktion B₃ och C är proteiner associerade till cellväggen och neutral detergent fiber (NDF) (Sniffen et al. 1992). Detergentsystemet enligt Van Soest (1967) delar in fibern i två fraktioner, lösliga i ett neutralt lösningsmedel (ND) eller ett surt lösningsmedel (AD). Det kan användas vid klassificering av proteiner enligt CNCPS. Vad gäller kväveämnen så löser sig vissa sanna proteiner och icke-proteinkväve i den neutrala lösningen (fraktion A, B₁ och B₂). Vissa fiberbundna proteiner löser sig i det sura lösningsmedlet (B₃). Lignifierat kväve och visst fiberbundet protein löser sig inte alls. Detergentmetoden kan ge två proteinfraktioner. NDIP minus ADIP blir fraktion B₃ enligt CNCPS och ADIP blir fraktion C enligt CNCPS.

Norfor

Norforsystemet (Volden, 2013), som införts av rådgivningsorganisationerna i alla nordiska länder utom Finland har en indelning av foderproteinet som liknar CNCPS, men med tre fraktioner; lösligt råprotein, olösligt potentiellt nedbrytbart råprotein och osmältbart råprotein. Det lösliga råproteinet har för närvarande en fast nedbrytningshastighet medan olösligt potentiellt nedbrytbart råprotein har en varierad nedbrytningshastighet.

Syfte

Olika växter har olika egenskaper och sammansättning. Olika yttre faktorer har visat sig påverka näringsinnehåll och sammansättning av växten. Syftet med denna litteraturstudie var att närmare

undersöka hur mognadsstadium, kvävegödslingsnivå och miljöförhållanden påverkar proteinnivåer i vallväxter.

Timotej

Mognadsstadium

Hos timotej finns det en sorts skillnad i RP-halt (Nordheim-Viken et al. 2009; Yu et al. 2003). Många studier visar att ökad mognadsgrad minskar RP-koncentrationen hos timotej (Hoffman et al. 1993; Cherny & Cherny 1997; Rinne & Nykänen 2000; Yu et al. 2003; King et al. 2012). I de nämnda försöken varierade RP-halten från 6,9 % RP till 23,9 % RP av ts. Tabell 1 visar fördelningen mellan olika proteinfraktioner i försöken.

Hur förändringen av RP-halt sker är något oklart. Rinne et al. (2002) och Nordheim-Viken & Volden (2009) såg en linjär minskning. Andra författare har sett en snabbare minskning både tidigt och sent i mognadsstadium. Nissinen et al. (2010) och Nordheim-Viken & Volden (2009) såg den snabbaste minskningen per dag av RP i de tidigaste mognadsstadierna. Detta motsägs dock av Nordheim-Viken et al. (2009) som såg den största minskningen i senare mognadsstadium. Minskningen i RP-halt var för Nissinen et al. (2010) som högst 1 procentenhet per dag och i medeltal var minskningen 0,65 procentenheter per dag. För Nissinen et al. (2010) inträffade den största minskningen av RP-koncentration ca 1 vecka innan den största minskningen i fodersmältbarhet observerades. King et al. (2012) såg att den största förändringen i RP-koncentration skedde då växten gick från stråskjutning till axgång. Nissinen et al. (2010) föreslog att minskningen av RP-koncentration i deras försök till största delen berodde på utvecklingen av stjälk. Andelen blad minskar med ökad mognad av växten och stjälkens RP-koncentration sjunker snabbare än i bladen vilket bidrar till en lägre koncentration (Gustavsson & Martisson, 2004). Nissinen et al. (2010) såg en 30-procentigminskning av RP-halten i bladen medan RP-halten i stjälken minskade med 60 %. Nordheim-Viken et al. (2009) såg också en minskning för stjälken men dock endast med 20 %, medan RP-halten i bladen var konstant med undantag för en tillfällig ökning runt axgång.

Mognadsgraden påverkade även fördelningen på olika proteinfraktioner och nedbrytningshastigheten av protein i vommen. Hur stor andel av RP som är tillgängligt i vommen varierar. Yu et al. (2004) såg en effektiv vomsmältbarhet på 50 % av totalt RP medan Vanhatalo et al. (1996) och Martineau et al. (2006) rapporterar att över 80 % av kvävet kunde brytas ned i vommen. Med ökad mognad sker en förändring från snabbt nedbrytbara fraktioner mot mer långsamt nedbrytbara eller onedbrytbara fraktioner. En senare skörd leder till mer RUP (Hoffman et al. 1993). Dock tycks fraktion A enligt CNCPS, öka i andelen med ökad mognad. Vanhatalo et al. (1996) såg att den totala proteinnedbrytningen i vommen minskade med ökad mognad men fraktionen av snabbt nedbrytbart kväve ökade med ökad mognad. Detta stöds av Yu et al. (2003) men motsägs av Hoffman et al. (1993) som såg en minskning. Andelen långsamt nedbrytbart kväve minskade med ökad mognad (Vanhatalo et al. 1996). Yu et al. (2003) såg inga förändringar innan blomning men mellan början av blomning och full blomning observerade man förändringar i andelar mellan de olika fraktionerna. Fraktion A ökade (från 9.2% till 27.5% av totalt RP) och fraktion B1 och B2 minskade (från 31.6% till 16.7% respektive från 37.8% till 29.4% av totalt RP). Fraktion B3 och C påverkades inte av mognadsstadium (medeltal 21.3% respektive 5.2% av totalt RP). Gustavsson & Martinsson (2004) såg att fraktion B3 och C minskade med ökad avkastning.

Vanhatalo et al. (1996) såg att mängden av icke-vomnedbrytbart kväve som var tarmsmältbart påverkades av mognadsstadium och hur lång tid det inkuberades i vommen innan. Mellan 49-78 % av kvävet var tarmsmältbart. Hur mognadsgrad påverkade smältbarheten var motsägelsefullt. Vid kort inkubationstid (upp till 24 h) i vommen minskade tarmsmältbarheten med ökat mognadsstadium, vid lång inkubationstid (96 h) ökade smältbarheten av kväve med ökad mognad.

Kvävegödsling

Gödsling påverkar inte bara själva kvävenivåerna i växten. Med ökad gödsling ökar TS-skörden (Jarvis, 1999). För kväve ger en ökad gödsling högre RP-nivåer (Cherney & Cherney, 1997; Nordheim-Viken & Volden, 2009; Nissinen et al., 2010; King et al., 2012) och ökningen antas vara linjär (Tamminga, 1996). Andra faktorer än gödsling kan dock signifikant påverka nivåer, Nordheim-Viken & Volden, (2009) såg vid samma gödslingsnivå en skillnad mellan år, troligtvis skapad av torka. Gödslingen har störst effekt perioden närmast efter tillförsel (Wilman et al., 1976). Gödsling påverkar även sammansättningen av proteinfractioner. En ökad gödsling ger en minskning av proteinkväve (Reid & Strachan, 1974). Fraktion B₃ och C minskade med ökad gödsling. Detta tyder på att den ökning av RP som sker med mer gödsling resulterar i en ökning av någon/några av proteinfractioner A, B₁ och B₂. (Cherney & Cherney, 1997). Detta bekräftas av Goswami & Willcox, (1979) som för rajgräs såg en ökning av NPN från ca 15 % vid ingen gödsling till 35 % vid 1000 kg N/ha och år. Andelen kväve som är kopplat till NDF minskar med ökad gödsling (Wilman et al., 1977). Detta bekräftas av Michaud et al. (2003) som med ökad gödsling observerade en ökning av totalt kväve, fraktion A och B₁. Fraktion B₂ och C minskade med en högre gödsling med 5 % respektive 12 % i samma studie. Fraktion B₃ var oförändrad. En ökad gödsling har endast gett en liten ökning (~5%) av flöden av icke-ammoniak-kväve till tunntarmen trots en större ökning av RP (Van Vuuren et al., 1992). Effektiviteten av mikrosyntesen tros vara nästintill opåverkad av gödslingsnivå (Peyraud & Astigarraga, 1998). En ökad gödsling ger inte heller några ökade nivåer av totalt kväve till tunntarmen trots att ammoniakhalten i vommen ökade (Van Vuuren et al., 1992). Dock skulle en drastisk minskning av gödsling resultera i att både kväve- och energi-metabolismen påverkas negativt på grund av ett lägre intag av foder (Peyraud & Astigarraga, 1998).

Miljöfaktorer

Nordheim-Viken et al. (2009) såg i tidigt mognadsstadium en skillnad i RP-koncentrationer beroende på antal ljusstimmar/dygn. De plantor som växt under 24h ljus per dygn hade en lägre RP-koncentration än de som haft 18h ljus/dygn. Denna skillnad sågs inte under senare mognadsstadium. Skillnaden tolkar författarna som en utspädningseffekt av vattenlösliga kolhydrater vid tidigt utvecklingsstadium. Bakken (1992) såg också en minskning i proteinnivå för odlingsförhållanden med fler ljusstimmar. Dock kunde man inte se en minskning i den totala mängden kväve i växten under långa dagar jämfört med korta. Därför dras även där slutsatsen att minskningen i koncentration beror på en utspädningseffekt på grund av ökad produktion av TS.

En lägre temperatur (9-15 °C) gav en lägre minskning (0,2- 1,1 g/kg TS) av RP/ dag jämfört med en högre temperatur (15-21 °C, 2,1- 2,2 g/kg TS). Dock ledde en högre temperatur till en högre nivå av RP i växten och de plantor som odlades vid låg temperatur växte också långsammare (Nordheim-Viken et al., 2009). Olika former av konservering av gräset påverkar också proteinet. Ensilering leder till en högre smältbarhet av RP i jämförelse med hö (Martineau et al., 2006).

Tabell 1, proteinfraktioner i timotej från olika studier

| | | RP, % TS | B3 och C, % av RP | C, % av RP, |
|--------------------|-------------|----------|-------------------|-------------|
| Cherney & | 0 kg N/ha | 11,9 | 27,5 | 3,3 |
| Cherney (1997), | 67 kg N/ha | 14,6 | 27,0 | 3,2 |
| Chazy ¹ | 90 kg N/ha | 16,1 | 24,9 | 3,2 |
| | 135 kg N/ha | 18,0 | 24,9 | 2,5 |
| | 269 kg N/ha | 22,3 | 21,0 | 2,0 |

| | | RP, % TS | RP lösligt i vommen, % av RP | RP olösligt potentiellt nedbrytbart i vommen, % av RP |
|--------------------------------------|--------------------|----------|------------------------------|---|
| Vanhatalo et al. (1996) ¹ | 1:a skörd, 3 juni, | 18,1 | 20,0 | 74,7 |
| | 2:a skörd 13 juni | 15,0 | 31,1 | 62,2 |
| | 3:e skörd, 23 juni | 11,9 | 39,7 | 49,3 |
| | 4:e skörd, 3 juli | 8,8 | 41,3 | 41,3 |
| | 5:e skörd, 13 juli | 7,5 | 49,1 | 43,5 |

| <u>Protein-fraktion, % av totalt RP</u> | | | | | |
|---|------------------------------|----------|------|------|------|
| | | RP, % TS | A | B | C |
| Hoffman et al. (1993) ¹ | 1:a skörd, stråskjutning | 23,9 | 59,5 | 34,2 | 6,3 |
| | 2:a skörd, begynnande axgång | 14,1 | 55,8 | 22,1 | 22,1 |
| | 3:e skörd, ax | 10,6 | 44,9 | 19,6 | 35,5 |

| <u>Protein-fraktion, % av totalt RP</u> | | | | | | | |
|---|--------------------------|----------|------|------|------|------|-----|
| | | RP, % TS | A | B1 | B2 | B3 | C |
| Yu et al. (2003), Climax ¹ | 1:a skörd, stråskjutning | 12,8 | 16,6 | 20,5 | 35,6 | 21,8 | 5,6 |
| | 2:a skörd, begynnande ax | 12,5 | 9,9 | 28,5 | 35,6 | 20,3 | 5,7 |
| | 3:e skörd, ax | 9,7 | 27,7 | 21,9 | 25,7 | 21,2 | 3,5 |
| Yu et al. (2003), Joliette ¹ | 1:a skörd, stråskjutning | 9,4 | 9,1 | 24,4 | 40,1 | 21,0 | 5,5 |
| | 2:a skörd, begynnande ax | 7,9 | 8,5 | 34,7 | 30,7 | 21,9 | 4,2 |
| | 3:e skörd, ax | 6,2 | 27,2 | 11,5 | 33,0 | 21,8 | 6,6 |

RP lösligt i vommen = A+ B1, olösligt potentiellt nedbrytbart i vommen = B2 + B3.

¹ Hö,

Rödklöver

Jämfört med gräs har rödklöver och andra baljväxter för det mesta högre koncentration av RP (Buxton, 1996; King et al., 2012), i storleksordningen 12.0% till 24.5% av ts (tabell 2) Med en ökad mognadsgrad minskar koncentrationen av RP (Hoffman et al., 1993; Aufrère et al., 2002; Vanhatalo et al., 2009; King et al., 2012). Minskningen sker dock långsammare för rödklöver än för gräs (Hoffman et al., 1993). Även för rödklöver antas minskningen i RP-koncentration vid ökad mognadsgrad hänga ihop med den minskade andelen blad (Aufrère et al., 2002).

En ökad mognad sänker även smältbarheten. Enligt King et al. (2012) minskar smältbarheten av organiskt substans för rödklöver i samma takt som för gräs (3,2 g/kg TS och dag), medan Buxton (1996) och Hoffman et al. (1993) såg en långsammare smältbarhetsminskning för rödklöver än

för gräs. Aufrère et al. (2002) såg även att smältbarheten av organiskt substans minskade medan kvävesmältbarheten inte minskade med ökad mognad. Vanhatalo et al. (2009) bekräftar dock att mängden smältbart kväve minskar med ökad mognad.

Tabell 2, Råproteinhalt och fördelning på proteinfraktioner i rödklöver från olika studier

| | | RP, % TS | Lösligt protein, % av RP | Olösligt vomnedbrytbart protein, % av RP | RUP, % av RP | Tarmtillgängligt protein, % av RP | |
|---|-------------------------------------|----------|---|--|--------------|-----------------------------------|-----|
| Grabber (2008) ¹ | | 20,6 | 51,1 | 14,4 | 34,2 | 31,0 | |
| | | | Protein-fraktion, % av totalt RP | | | | |
| | | RP, % TS | A | B1 | B2 | B3 | C |
| Kirchhof et al. (2010), Pirat , Odlat i mix med rajgräs ² | 1:a skörd, 3 juni, tidig blomning | 14,5 | 19,6 | 29,6 | 44,3 | 3,9 | 2,7 |
| | 2:a skörd, 13 juni, mitt I blomning | 12,0 | 19,8 | 22,4 | 47,6 | 5,3 | 4,9 |
| | 3:e skörd, 23 juni, sen blomning | 12,0 | 21,5 | 27,6 | 38,9 | 5,5 | 6,5 |
| | | | Protein-fraktion, % av totalt RP | | | | |
| | | RP, % TS | A | B | C | | |
| Hoffman et al. (1993) ² | 1:a skörd, stjälk-stärkning | 24,5 | 52,8 | 42,2 | 5,0 | | |
| | 2:a skörd, knopning | 18,4 | 39,5 | 49,7 | 10,8 | | |
| | 3:e skörd, blomning | 15,7 | 31,0 | 53,8 | 15,2 | | |

Lösligt protein (SP) = lösligt i borat-fosfat-buffer, Olösligt vomnedbrytbart protein (IRDP) = RDP – SP, Icke vomnedbrytbart protein (RUP) = CP-RDP, tarmtillgängligt protein (IAP) = RUP – ADIP.

¹ Ensilage, ² Hö

Krawutschke et al. (2013) observerade att CNCPS fraktion A hos vit- och rödklöver generellt ökade i andel med ökad mognadsgrad. De bladrikaste plantorna hade även lägsta andelen av fraktion A. Detta motsägs dock av Kirchhof et al. (2010) som för flera olika baljväxter, inklusive rödklöver, inte såg någon signifikant skillnad för fraktion A med ökad mognad. Fraktion B stod alltid för den största andel av RP och Kirchhof et al. (2010) begränsade detta till att B₂ är störst. Krawutschke et al. (2013) såg ingen variation av hela fraktion B under skördeperioden medan Kirchhof et al. (2010) såg en ökning för fraktion B₃ men ej B₁ och B₂. Fraktion C tenderade att öka i andel av RP med ökad mognadsgrad i båda försöken. Fraktionen var negativt korrelerad med icke-strukturella kolhydrater (NSC) och Maillardreaktionen antas vara en bidragande faktor till korrelationen (Krawutschke et al. 2013). Kirchhof et al. (2010) och Grabber, (2008) såg en effekt i form av ökning på fraktion B3 och C. De antydde utan analyser en påverkan av enzymet polyphenoloxidas (PPO). Detta eftersom enzymet vid förtorkning bildar organiska föreningar kallad o-kinoner vilka i sin tur bildar komplex med protein vilket ger mer svårnedbrytbara enheter. Detta motsägs dock av Krawutschke et al. (2013) som undersökte fenomenet närmare och inte såg något samband mellan fraktion C och PPO. Kondenserade tanniner, som även de binder till protein, förekommer i rödklöver bara i låga koncentrationer och har en förmodligen en försumbar påverkan på proteinegenskaperna (Grabber, 2008).

Vanhatalo et al. (2009) såg att med ökad mognad av rödklöver får man en minskad mängd kväve i urin, lägre kvävebalans och en lägre beräknad PBV. Flödet av mikrobprotein ökade med ökad mognadsgrad men flödet från vommen av smältbart icke ammoniakkväve och totalt icke-ammoniakkväve påvekades inte av mognad. Att mängden mikrobprotein ökade med mognad tror man beror på att det senare skördat ensilaget gav ett högre TS-intag. De slutsatser de drar är med ett mognare ensilage behövs en högre råprotein-koncentration jämfört med tidigt skördat ensilage för att möta de mikrobiella behoven av vomnedbrytbart kväve. Ingen skillnad beroende på mognadsgrad sågs dock för flöden eller koncentrationer av olika aminosyror till tunntarmen.

Miljöfaktorer

Fluktuationer av fraktion A under skördeperioden innan blomning tros bero på miljöfaktorer, så som vattenstress, vilka påverkar kväve-metabolismen. Dock tyder resultat på att kvävenivå i marken och NSC-nivå i växten påverkar de olika fraktionerna mer än olika miljöfaktorer. En senare-läggning av skörd till senare på dagen föreslås för ett effektivare kväveutnyttjande i vommen av fraktion A genom ökad mängd av lösliga kolhydrater (Krawutschke et al. 2013). Typ av konserveringsmetod av klövern påverkar RP-koncentrationen. Hö sågs ha en något lägre RP-koncentration jämfört med ensilage (Grabber, 2008).

Blandvallar

Det är vanligt i Sverige med blandvallar där flera vallväxter sås tillsammans vid vallanläggningen. Konkurrensen mellan växterna kan påverka utvecklingen av växten och nivåerna av näringsämnen.

Timotej och Ängssvingel

Odling av timotej tillsammans med ängssvingel har precis som i ensambestånd gett lägre RP-koncentration med ökande mognadsgrad (Rinne et al. 1997; Rinne et al., 2002). Rinne et al. (2002) såg en minskning av RP-halten med 2,8 g/kg TS och dag medan Rinne et al. (1997) såg en minskning av RP på 0,5 g/ kg TS och dag med ökad mognad. Smältbarheten av RP minskar med senarelagd skörd (Rinne et al., 2002; Vanhatalo et al., 2009; Kuppola et al., 2010). Rinne et al. (2002) såg att en större minskning skedde mellan de två sista skördetillfällena. En senare skörd resulterade i en ökning av fraktion C. För fraktion A och B kunde inga stora skillnader konstateras med ökad mognadsgrad (Rinne et al., 1997).

Ett tidigare skördat ensilage ger upphov till större förluster av kväve via ammoniak i vommen (mätt genom mängd kväve i foder-mängd kväve som passerade vidare till tunntarmen) (Rinne et al., 1997). Med en högre mognadsgrad minskade mängden PBV, mängden mikrobiellt protein och mängden kväve i urinen och träck. En senare skörd ledde till ett effektivare kväveutnyttjande. Flödet från vommen av smältbart icke ammoniakkväve och totalt icke-ammoniakkväve påvekades inte av mognad. Retentionen av kväve minskade med en senare skörd. Koncentrationen av flyktiga fettsyror minskade med ökad mognad och pH-nivån i vommen tenderade att öka. Dock sågs ingen skillnad på koncentrationen eller flödet till tunntarmen av olika aminosyror som var beroende på skördetidpunkt. Inte heller sågs något som tydde på skillnader i koncentration av protein i mjölken (Vanhatalo et al., 2009). En senare skörd gav en mindre mängd RP i vommen, detta trots en ökad TS-mängd (Rinne et al., 2002). Kuppola et al. (2010) fick lägre ammoniakhalt i vommen med en senare skörd och lägre flöden av icke ammoniakkväve och mikrobprotein till tunntarmen. Dock gav det mer mogna ensilaget en effektivare mikrob-syntes. De kunde även konstatera att flöden och intag av kväve speglade

intaget av ensilage och RP-koncentrationen. Med en senare skörd ökade även mängden osmältbar NDF (Rinne et al., 2002).

Timotej, ängssvingel, rörsvingel och rödklöver

Vid en odling av blandvallar med timotej (50 %) och ängssvingel (30 %) och rödklöver (20 %), var förändringar i den morfologiska sammansättningen över tid (minskning i andel blad och ökning i andel stjälk) långsammare hos rödklöver än timotej. Rödklövern hade även den en generellt snabbare nedbrytningshastighet. Med en ökad mognad sågs lägre RP-nivåer och en sämre smältbarhet av organiskt material. De förändringarna sågs för både timotej och rödklöver men starkast hos timotej (Rinne & Nykänen, 2000). De föreslår att temperatursumma skulle kunna vara en bra metod att förutspå vallens smältbarhet av organiskt material och en metod där det ingår kan vara användbar i syfte att fastställa skördetidpunkt.

Randby et al. (2012) skördade en mix av timotej (50%), rörsvingel, (35%) och rödklöver (15%), i tre olika mognadsstadium, väldigt tidigt, tidigt och normal skördetidpunkt. Den totala smältbarheten var hög men minskade med ökad mognad. Koncentrationen av RP bufferlösligt kväve och NH₃minskade med ökad mognad. Med ökad mognadsgrad sågs en liten minskning i tunntarmssmältbart protein (AAT) men proteinbalansen i vommen minskade drastiskt (från 29,6 g/kg TS till -21,6 g/kg TS). Det sist skördade ensilaget gav även med en hög kraftfodergiva (16 kg/d) i fodret en negativ proteinbalans i vommen (-1,6). För protein som inte bryts ned i vommen (RUP) minskade smältbarheten med ökad mognad. Den totala mängden osmältbart protein ökade med ökad mognad. Proteinnivån i mjölken förändrades inte nämnvärt av mognadsgrad på ensilaget. Det bästa kväveutnyttjandet uppnåddes med den sista skörden av ensilage med lägst kraftfodergiva men mjölmängden var högst för ensilaget med högst smältbarhet. Kompensation med en hög kraftfodergiva till de foder som hade låg smältbarhet hjälpte inte.

Diskussion

Mognadsgrad har en påverkan både på RP-koncentration och olika proteinfraktioner. Dock tycks det finnas vissa skillnader mellan baljväxter och gräs. Över lag har klöver en högre RP-koncentration än timotej vilket troligtvis beror på en annan kemisk och morfologisk sammansättning av växten. Minskningen sker även långsammare hos rödklöver än timotej. Detta tyder på en långsammare förändring av andelarna blad och stjälk hos rödklöver jämfört med timotej då bladen är den proteinrika delen. Med en ökad kvävegödning och högre temperatur ökar RP-halten hos timotej. En lägre RP-koncentration behöver inte vara något problem så länge idisslarens behov av RP tillfredsställs. Det som kan påverka är hur stor andel RP som är smältbart. Yu et al. (2004) hade en effektiv vomsmältbarhet på 50 % av totalt RP och Vanhatalo et al. (1996) med flera såg en potentiell smältbarhet på över 80 %. Skulle en stor andel RP vara osmältbart kan även en högre RP-nivå vara bristfällig för kon. Detta leder till att inte bara nivån av RP utan även smältbarheten och de olika fraktionerna påverkar utnyttjandet och optimala nivåer. När i tid förändringarna av RP sker tycks vara lite otydligt. Både Nissinen et al. (2009) och Nordheim-Viken & Volden (2009) såg den största förändringen av RP under tidigt mognadsstadium medan Nordheim-Viken et al. (2009) och Rinne et al. (2002) såg en större minskning under senare mognadsstadium. Detta skulle kunna bero på miljöfaktorer då till exempel en lägre temperatur gav en lägre RP-minskning/dag (Nordheim-Viken et al., 2009). Dock verkar en ökad mognad sänka smältbarheten av kväve (Hoffman et al., 1993; Rinne et al., 2002; Vanhatalo et al., 2009). Smältbarheten av organisk substans verkar sjunka snabbare i timotej än i

rödklöver (Hoffman et al., 1993; Buxton, 1996) vilket skulle indikera att de olika arterna även skiljer sig i smältbarhet av kväve då en del protein är bundet till fiber.

Rödklöver och timotej tycks följa samma mönster vid förändringar av kvävefraktioner och blandvallar med de två indikerar detsamma (tabell 3). Med en ökad mognad ökade fraktion A för rödklöver och när både kvävegödsling och mognadsgrad ökade skedde detsamma för timotej (tabell 3). Ökningarna av lättillgängligt kväve som sker med en ökning av fraktion A (Michaud et al., 2003; Yu et al., 2004; Krawutschke et al., 2013) och eventuellt fraktion B1 leder till att det blir mer snabbt tillgängligt kväve i vommen. Sker detta i samband med en ökning av tillgängliga kolhydrater i vommen skulle mikroberna eventuellt kunna tillgodogöra sig den ökade mängden kväve. Blir det en för stor mängd kväve eller en obalans mellan kolhydrater och kväve leder det till att överskottet av kväve utsöndras som urea och förloras.

För fraktion B, vilken består av sant protein, ser det ut som att det med ökad mognadsgrad sker en förskjutning mot mer svårnedbrytbart protein, det vill säga från B₁ mot B₃ (Yu et al., 2004). Andelen stjälk ökar med ökad mognad och stjälken har en högre fiberhalt än bladen. Detta tyder på att växtfysiologiskt blir en större andel protein fiberbundet med ökad mognadsgrad. Sker detta betyder det att det blir mindre lättillgängliga kolhydrater i vommen och troligtvis en ökning av bypass proteiner då vissa av proteinerna inte hinner smältas i vommen.

Tabell 3, Sammanställning av förändringar i proteinfraktioner med utvecklingsstadium

| | RP-konc. | A | B1 | B2 | B3 | C |
|------------------|----------|-----|---------|--------|-----|-------|
| Timotej | Minska | Öka | Minska | Minska | X | X/Öka |
| Rödklöver | Minska | Öka | X/ öka? | X/öka? | Öka | Öka |

För fraktion C i timotej och mognadsgrad är inte resultaten entydiga. Yu et al. (2004) såg ingen förändring för fraktion C medan Rinne et al. (1997) i blandvall såg en ökning av fraktion C och Hoffman et al. (1993) såg en ökning av RUP med ökad mognad vilket tyder på att fraktion B₃ och C borde öka. För rödklöver ses en tydlig ökning av fraktion C. Där har en möjlig påverkan av enzymet PPO diskuterats vilken skulle kunna öka mängden otillgängligt kväve. Dock har inga entydiga resultat visats och ingen forskning där förändringar av PPO under ökad mognadsgrad studerats har hittats. En ökning av fraktion C leder till mindre mängd smältbart protein vilket gör att mer protein förloras. Är proteinet inte smältbart förloras det som träck och inte urin vilket gör att det lättare kan tas tillvara och återanvändas.

Kvävegödsling av timotejvallar leder till en ökning av RP-koncentration (tabell 4), men en stor andel av den ökningen hänvisas till en ökning av fraktion A (Goswami & Willcox, 1979; Cherney & Cherney, 1997). Även andelen mer svårsmält kväve minskade till följd av ökad gödsling. Detta leder till en ökning av kväve i vommen. Man har dock inte sett en likartad ökning av mikrobprotein till följd av en högre kvävenivå i vommen, vilket tyder på att en stor del av kväve förloras via urea. Detta tyder på att med kväveeffektivitet som huvudmål är en lägre kvävegödslingsnivå att föredra. Dock finns det andra fördelar med högre kvävegödsling. Det ger ett mer lättsmält foder, vilket leder till ett högre foderintag och ett högre energiintag. Ökad kvävegödsling ger även en högre avkastning (King et al. 2012) vilket ibland kan vara önskvärt. Ur proteinsynpunkt är därför kvävegödsling en balansgång. Utan någon gödsling alls uppstår en brist på kväve för växten, särskilt i långliggande vallar, men för kraftig kvävegödsling orsakar ett

överskott av lösliga proteiner som förloras bland annat via urea. Exakt vilken kvävenivå som är den rätta är svårt att säga då resultatet även påverkas av andra förutsättningar.

Tabell 4, Förändringar i proteinfraktioner med ökad kvävegödsling

| | RP-konc. | A | B1 | B2 | B3 | C |
|----------------|-----------------|----------|-----------|------------|-------------------|----------|
| Timotej | Öka | Öka | Öka | Öka/Minska | Minska/Oförändrad | Minska |

En senare skörd leder generellt till högre nivåer av icke-proteinkväve och mer svårsmält sant protein. Trots de förändringar i nedbrytningshastigheter som detta medför såg Randby et al. (2012) ingen skillnad för koncentration av protein i mjölken vilket tyder på att även ett senare skördat ensilage kunde tillgodose behovet av kväve. Detta skulle kunna tyda på en ökning av fraktion A med en senare skörd kan ersätta det protein som blir mer svårsmält och då bildar bypass-protein. Att andelen bypass-protein ökar behöver emellertid inte betyda mer tillgängligt kväve för tunntarmen. Det senare skördat ensilaget har en högre andel av fraktion C vilket betyder mer otillgängligt kväve för idisslaren.

När analyser enligt CNCPS görs får man fram en fördelning av potentiell utnyttjningsbara proteiner. Hur kvävet faktiskt utnyttjas påverkas av ytterligare faktorer, bland annat retentionstid i vommen och balans mellan tillgängliga kolhydrater och kväve. Detta gör att den effektiva smältbarheten skiljer sig från den analyserade potentiella smältbarheten. De försök gjorda under utfodring visar på att de större förändringarna, framförallt fraktion A, inte påverkar flöden från vommen vidare till tunntarmen med några större förändringar. Försök där kraftfodertillskott inkluderats i foderstaten för att undvika låg råproteinivå har visat att det inte behöver vara något problem att utfodra även ett senare skördat ensilage.

Sammantaget ger en sen skörd en lägre koncentration av RP och högre koncentrationer av svårsmält sant protein. Att den förändringen sker tycks ur kväveutnyttjandesynpunkt vara positiv. En senare skörd ger en förbättrad total kvävebalans (Vanhatalo et al., 2009), en effektivare mikroprotein syntes (Kuppola et al., 2010) och lägre PBV (Randby et al., 2012). Ett effektivt kväveutnyttjande är önskvärt ur miljö- och ekonomisynpunkt. Colmenero & Broderick (2006a) fann att 16,5 % RP är optimalt ur avkastningssynpunkt. Kan man uppnå den nivån med ett något senare skörd utan att gå under behovet av mängden tillgänglig energi i fodret skulle en senare skörd vara att föredra ur utnyttjandesynpunkt.

Med Norfor och CNCPS finns nya möjligheter att större hänsyn till utnyttjandet av olika kvävefraktioner och det borde teoretiskt kunna ge ett bättre kväveutnyttjande. Beroende på vad som vill uppnås, ett högre foderintag, högre proteinnivå i mjölken, eller något annat, skapas olika förutsättningar för foderstaten vilket leder till att foderstaten med bäst kväveutnyttjande kanske inte är den bästa med det målet som vill uppnås.

Vad som inte riktigt kom fram med detta arbete men som skulle vara intressant är vilka växtfysiologiska förändringar som skapar kväveförändringar i växten. Att mer stjälk bildas vid högre mognad var tydligt men vilka fysiologiska förändringar är det som gör att icke-proteinkvävet ökar med kvävegödsling och mognad?

Referenser

- Aufrère, J., Graviou, D., Demaquilly, C. 2002. Protein degradation in the rumen of red clover forage at various stages of growth and conserved as silage or wrapped big bales. *Reproduction Nutrition Development* 42, 559–572.
- Bakken, A. K. 1992. Effect of Daylength on the Nitrogen Status of Timothy (*Phleum pratense* L.). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 42, 62-68.
- Buxton, D. R. 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* 59, 37-49.
- Broderick, G.A. 2003. Effects of Varying Dietary Protein and Energy Levels on the Production of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 86, 1370–1381.
- Canfield, R.W., Sniffen, C.J. and Butler, W.R. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73, 2342–2349.
- Cherney, D. J.R., Cherney, J. H. 1997. Grass Forage Quality and Digestion Kinetics as Influenced by Nitrogen Fertilization and Maturity. *Journal of Applied Animal Research*. 11, 105-120.
- Colmenero J. J. O., Broderick, G., A. 2006a. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 1704-1712.
- Colmenero J. J. O., Broderick, G., A. 2006b. Effect of dietary crude protein concentration on ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 1694–1703.
- Czerkawski, J.W. 1986. An introduction to rumen studies. Pergamono press Ltd, Oxford England.
- Griswold, K. E., Apgar, G. A., Bouton, J., Firkins, J. L. 2003. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science* 81, 329–336.
- Grabber, J.H., 2008. Mechanical maceration divergently shifts protein degradability in condensed-tannin vs. *o*-quinone containing conserved forages. *Crop Science* 48, 804–813.
- Gustavsson, A. & Martinsson, K. 2004. Seasonal variation in biochemical composition of cell walls, digestibility, morphology, growth and phenology in timothy. *European Journal of Agronomy* 3, 293–312.
- Goswami, A. K., and J. S. Willcox. 1979. Effect of applying increasing levels of nitrogen to ryegrass. I. Composition of various nitrogenous fractions and free amino acids. *Journal of Science Food Agriculture* 20:592.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. I., Rinne, M. Kytölä, K. Khalili, H. 2008. Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 91, 3589-3599.
- Hoffman, P.C., Sievert, S.J., Shaver, R.D., Welch, D.A. Combs, D.K. 1993. In situ dry matter, protein and fiber degradation of perennial forages. *Journal of Dairy Science* 76, 2632-2643.

- Jarvis, S.C. 1999. Nitrogen management and sustainability. In: Grass for dairy cattle. (eds. J.H Chernet & D.J.R Cherney) 161-192. CABI publishing, Wallingford, UK
- Krawutschke, M., Kleen, J., Weiher, N., Loges, R. Taube, F. Gierus, M. 2013. Changes in crude protein fractions of forage legumes during the spring growth and summer regrowth period. *Journal of Agricultural Science*, 151, 72–90.
- King, C., Mceniry, J., Richardson, M., O’Kiely, P. 2012. Yield and chemical composition of five common grassland species in response to nitrogen fertiliser application and phenological growth stage. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science*, 62, 644-658.
- Kirchhof, S., Eisner, I., Gierus, M., Sudekum, K.H. 2010. Variation in the contents of crude protein fractions of different forage legumes during the spring growth. *Grass and Forage Science* 65, 376–382.
- Klevesahl, E.A., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., Wickersham, T.A., Farmer, C.G., Arroquy, J.I., Johnson, D.E. 2003. Effect of a wide range in the ratio of supplemental rumen degradable protein to starch on utilization of low-quality, grass hay by beef steers. *Animal Feed Science and Technology* 105, 5–20.
- Kuoppala, K., Rinne, M., Ahvenjärvi, S., Nousiainen, J., Huhtanen, P. 2010. The effect of harvesting strategy of grass silage on digestion and nutrient supply in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93, 3253–3263.
- Kuoppala, K., Rinne, M., Nousiainen, J., Huhtanen, P. 2008. The effect of cutting time of grass silage in primary growth and regrowth and the interactions between silage quality and concentrate level on milk production of dairy cows. *Livestock Science* 116, 171–182.
- Law, R. A., Young, F. J., Patterson, D. C., Kilpatrick, D. J. Wylie, A. R. G., Mayne, C. S. 2009. Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. *Journal of Dairy Science* 92, 1001–1012.
- Ledgard, S.F., Penno, J.W., Sprosen, M.S. 1997. Nitrogen balances and losses on intensive dairy farms. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 59, 49–53.
- Leonardi, C., Stevenson, M., Armentano, L. E. 2003. Effect of Two Levels of Crude Protein and Methionine Supplementation on Performance of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 86, 4033–4042.
- Mangan, J.L. 1982. The nitrogenous constituents of fresh forages. In: Forage protein in ruminant animal production. BSAP occasional publication of the British society of animal production. (eds. D.J Thomson, D.E. Beever, R.G. Gunn), 25-40. British society of animal production, Surrey, UK.
- Martineau, R., Lapierre, H., Ouellet, D. R., Pellerin, D., Berthiaume, R. 2006. In situ degradation of timothy conserved as restrictively or extensively fermented silage or as hay. *Canadian journal of animal science* 86, 299-306.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. Wilkinson, R.G. 2011. *Animal nutrition*. 1-15, 318-333. Pearson education limited, Harlow England.
- Merchen, R.C. & Bourquin, L.D. 1994. Process of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. In: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. 564-612, American society of agronomy, Inc. USA.

- Michaud, R., Tremblay, G.F., Belanger, G. 2003. Protein fractions and N fertilization in timothy (*Phleum pratense* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 39, 279-281.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cows*. 7th rev. ed. National Academy of Science, Washington, DC.
- Nissinen, O., Kalliainen, P., Jauhiainen, L. 2010. Development of yield and nutritive value of timothy in primary growth and regrowth in northern growing conditions. *Agricultural and food science* 19, 252-268.
- Nordheim-Viken, H. & Volden, H. 2009. Effect of maturity stage, nitrogen fertilization and seasonal variation on ruminal degradation characteristics of neutral detergent fibre in timothy (*Phleum pratense* L.). *Animal Feed Science and Technology* 149, 30–59.
- Nordheim-Viken, H., Volden, H., Jørgensen, M. 2009. Effects of maturity stage, temperature and photoperiod on growth and nutritive value of timothy (*Phleum pratense* L.). *Animal Feed Science and Technology* 152, 204–218.
- Peyraud, J.L., Astigarraga, L. 1998. Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance. *Animal Feed Science and Technology* 72, 235–259
- Rajala-Schultz, P.J., Saville, W.J.A., Frazer, G.S., Wittum, T.E. 2001. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84, 482–489.
- Randby, Å. T., Weisbjerg, M. R., Nørgaard, P., Heringstad, B. 2012. Early lactation feed intake and milk yield responses of dairy cows offered grass silages harvested at early maturity stages. *Journal of Dairy Science* 95, 304-317.
- Reid, D. & Strachan, N.H. 1974. Effects of a wide-range of nitrogen rates on some chemical constituents of herbage from perennial ryegrass swards with and without white clover. *Journal of Agricultural science* 83, 393-401
- Rinne, M., Jaakkola, S., Huhtanen, P. 1997. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 1. Organic matter digestion, rumen fermentation and nitrogen utilization. *Animal Feed Science Technology* 67, 1-17.
- Rinne, M., Huhtanen, P., Jaakkola, S. 2002. Digestive processes of dairy cows fed silages harvested at four stages of grass maturity. *Journal of Animal Science*. 80, 1986–1998
- Rinne, M. & Nykänen, A. 2000. Timing of primary growth harvest affects the yield and nutritive value of timothy-red clover mixtures. *Agricultural and food science in Finland* 9, 121-134.
- Schwab, C.G., Huhtanen, P., Hunt C.W., Hvelplund T. 2005. Nitrogen Requirements of Cattle. In: *Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle Reducing the Environmental Impact of Cattle Operations* (eds. Hristov, A. A., Pfeffer E.), 13-70. CABI International, Wallingford, Oxfordshire, UK.
- Sniffen, C. J., O'Connor, J. D., Van Soest, P. J., Fox, D. G., Russell, J. B. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability *Journal of Animal Science* 70, 3562–3577.
- Tamminga, S. 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies of ruminants. *Journal of Animal Science* 74, 3122–3124.

- Tamminga, S., Van Straalen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M., Steg, A., Wever, C.J.G., Blok, M.C. 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livestock Production Science* 40, 139-155
- Van Soest, P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of animal science* 26, 119-128.
- Vanhatalo, A., Kuoppala, K., Ahvenjärvi, S. Rinne, M. 2009. Effects of feeding grass or red clover silage cut at two maturity stages in dairy cows. 1. Nitrogen metabolism and supply of amino acids. *Journal of Dairy Science* 92. 5620–5633.
- Vanhatalo, A., Dakowski, P., Huhtanen, P. 1996. Effects of stage of growth and duration of rumen incubation time on intestinal digestibility of rumen-undegradable nitrogen in grass by mobile-bag method in cows. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A, Animal science* 1, 1-10.
- Van Vuuren, A. 1993. Digestion and nitrogen metabolism of grass fed dairy cows. PhD thesis; Wageningen University, Netherlands
- Van Vuuren, A.M., Krol-Kramer, F., Van Der Lee, R.A., Corbijn, H., 1992. Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. *Journal of dairy science*. 75, 2215–2225
- Varel, V. H., Nienaber, J. A., Freetly, H. C. 1999. Conservation of nitrogen in cattle feedlot waste with urease inhibitors. *Journal of animal science* 77, 1162-1168.
- Volden, H. 2013 Overall model description, NorFor – The Nordic feed evaluation system. http://norfor.info/files/pdf-dokumenter/Artikler/EAAP130_ch2.pdf
- Wilman, D., Koocheki, A, Lwoga, A.B. 1976. Effect of interval between harvest and nitrogen application on proportion and yield of crop fractions and on digestibility and digestibility yield and nitrogen- content and yield of 2 perennial ryegrass in 2nd harvest year. *Journal of agricultural science* 87, 59-74
- Wilman, D., Daly, M., Koocheki, A., Lwoga, A.B., 1977. The effects of interval between harvest and nitrogen application on the proportion and digestibility of cell wall, cellulose, hemicellulose and lignin and on the proportion of lignified tissue in leaf cross section in two perennial ryegrass varieties. *Journal of agricultural Science (Cambridge)* 89, 53–63.
- Wheeler, J.S., Lalman, D.L., Horn, G.W., Redmon, L.A., Lents, C.A. (2002) Effects of supplementation on intake, digestion, and performance of beef cattle consuming fertilized, stockpiled bermudagrass forage. *Journal of Animal Science* 80, 780–789.
- Yu, P., McKinnon, J. J., Christensen D. A. 2004. The ratios of degradation characteristics of forages in the rumen of dairy cows: effect of variety and stage of maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 179–189.
- Yu, P., Christensen D. A., McKinnon, J. J., Markert, J. D. 2003. Effect of variety and maturity stage on chemical composition, carbohydrate and protein subfractions, in vitro rumen degradability and energy values of timothy and alfalfa. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 279–290.

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15, 30, 45 eller 60 högskolepoäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet. Institutionens examensarbeten finns publicerade på SLUs hemsida www.slu.se.

In this series Degree projects (corresponding 15, 30, 45 or 60 credits) at the Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, are published. The department's degree projects are published on the SLU website www.slu.se.

| | |
|--|--|
| <p>Sveriges lantbruksuniversitet Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap Institutionen för husdjurens utfodring och vård Box 7024 750 07 Uppsala Tel. 018/67 10 00 Hemsida: www.slu.se/husdjur-utfodring-var</p> | <p><i>Swedish University of Agricultural Sciences Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management PO Box 7024 SE-750 07 Uppsala Phone +46 (0) 18 67 10 00 Homepage: www.slu.se/animal-nutrition-management</i></p> |
|--|--|