

Slutrapport: Har mjölkfettet en hämmande verkan på mjölkfettsyntesen - och hur kan det i så fall utnyttjas i praktiken?

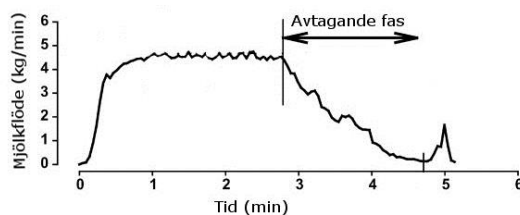
Projektgrupp

Huvudsökande för projektet var Professor Kerstin Svennersten-Sjaunja på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU. Medsökande var Sigrid Agenäs och Sabine Ferneborg på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU, Jana Pickova på institutionen för livsmedelsvetenskap, SLU, och Lars Wiking, institutionen för livsmedelsvetenskap, Aarhus Universitet, Danmark. Halvvägs genom projektet pensionerades Kerstin Svennersten-Sjaunja SLU och projektet överfördes till Emma Ternman på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU.

Bakgrund

Effektiv mjölkning

Mjölkningseffektiviteten i en besättning kan mätas som antalet kor mjölkade per tidsenhet eller som mängden mjölk utvunnen per tidsenhet. I studier har jämförelse gjorts mellan olika mjölkningsrutiner för att nå en så hög effektivitet som möjligt. Frågan har ställts om förstimulering ska praktiseras eller ej för att vinna mjölkningstid i AMS (Jago *et al.* 2006, Davis *et al.* 2008, Edwards *et al.* 2013). Ytterligare exempel på aktuella frågeställningar är vid vilken mjölkflödesnivå mjölkningsorganet ska tas av och vilken effekt det har på avkastningen hos enskilda kor (Jago *et al.* 2010). Vid automatisk avtagning av spenkopparna är utrustningen i regel inställd så att spenkopparna tas av när mjölkflödet från hela juvret är 200-800 gr/min, nivåer där mjölkflödeskurvan är i avtagande fas (fig. 1). Nivån när den avtagande fasen börjar varierar dock både inom och mellan kor. Frågan är om effektiviteten kan förbättras om AMS utvecklas så att hänsyn tas till den individuella variationen och variationen mellan spenar inom en ko.



Figur 1. Mjölklödeskurva från maskinmjölkning. Modifierad från (Weiss *et al.*, 2004).

Utfodring under mjölkning

Utfodring under mjölkning har länge använts för att underlätta mjölkningen samt för att locka kor till mjölkning i automatiska mjölkningssystem. Svennersten *et al.* (1990) fann att utfodring gav upphov till en ökning i oxytocin i plasma, medan Svennersten *et al.* (1995) fann att kor som utfodrades under mjölkning hade både högre och förlängd utsöndring av oxytocin under mjölkningen jämfört med kor som utfodrades 1,5 timmar efter mjölkning.

Utfodring under mjölkning har också visats vara effektivt för att locka kor att gå till automatisk mjölkning. I en studie av Prescott *et al.* (1998) fördubblades mjölkningsfrekvensen när korna utfodrades med kraftfoder i mjölkningsstationen.

Juvertömningens betydelse

Efter avslutad mjölkning finns det mjölk kvar i juvret, s.k. residualmjölk. Ju bättre mjölknedgivningen skett desto mindre mängd residualmjölk. Vid en lyckad mjölkning utgör residualmjölken ca 10-12 % av totala mjölmängden. Om juvret töms på residualmjölken med hjälp av oxytocininjektioner ökar mängden mjölk som produceras fram till nästa mjölkning (Adams & Allen, 1952, Nostrand *et al.*, 1991). När juvret tömdes på residualmjölk under hela laktationen ökade avkastningen med 12% (Nostrand *et al.*, 1991). En pilotstudie som nyligen har genomförts i vår forskargrupp visade att effekten av juvertömning är direkt och att mjölmängden ökar även vid högre juvertömning vid korta mjölkningsintervall (Ferneborg *et al.* 2012). Det är snarare tömningen än oxytocinet som ger den ökade mjölmängden (Linzell & Peaker, 1971). Enbart ökad juvertömning verkar alltså, i likhet med frekvent mjölkning, kunna ha bestående effekter på mjölmängden och kanske även laktationens uthållighet.

Mjölken innehåller hämmande substanser som påverkar mjölksyntesen

Det är känt att fler mjölkningar än två per dygn ökar mjölkproduktionen med 10-15% (Erdman & Varner, 1995). Mjölakens närvaro i juvret hämmar mjölksekretionen och vid mer frekvent tömning av juvret minskar den hämmande effekten, eftersom mjölken avlägsnas oftare. Flera substanser i mjölken har förslagits utgöra den hämmande faktorn; bl.a. proteinet Feed-back Inhibitor of Lactation (FIL) (Wilde *et al.*, 1988) och hormonet serotonin (Hernandez *et al.* 2008) samt andra proteiner som återfinns i mjölakens vattenfas (Collier *et al.* 2010). Gemensamt för dessa är att de är proteiner som syntetiseras av de mjölkproducerande cellerna. Proteinstrukturen hos FIL har ännu inte beskrivits medan serotonin är ett välkänt hormon som påverkar flera fysiologiska processer i kroppen. Under de senaste åren har olika forskargrupper visat att serotonin är involverat i kontrollen av mjölksyntesen, troligen genom effekter på celdöd, nybildning av celler och mammarblodflödet (Matsuda *et al.* 2004, Hernandez *et al.* 2008, McGuire & McGuire, 2010, Collier *et al.* 2010).

Sammanfattning av problemområdet samt mål med projektet

Mjölknings effektiviteten i en besättning är betydande för såväl lönsamhet som beläggning. Ju mindre tid varje individuell mjölkning tar, desto fler kor kan mjölkas per timma. En avgörande faktor för tiden varje mjölkning tar är vid vilken punkt mjölkningen avslutas, den så kallade avtagningsnivån. Att höja avtagningsnivån har diskuterats under ett antal år, men det finns en rädsla för påverkan på juvertömning, mjölmängd och juverhälsa. När juvertömningen är dålig finns mer residualmjölk med hög fetthalt kvar i juvret efter mjölkning, och denna mjölkfraktion har visats hämmande effekt på mjölkbildningen. Utfodring under mjölkning har använts länge, och har visats öka mjölknings effektiviteten och påverka mjölkflödeskurvans form genom en ökad oxytocinfrisättning. Det kan därför vara möjligt att genom utfodring under mjölkning stimulera mjölkflödet så att en hög avtagningsnivå kan användas utan negativa effekter på juvertömning och mjölkbildning.

Problemformulering: Det är inte utrett hur förstimulering och automatisk spenkoppsavtagning skall kombineras i AMS för en effektiv och uthållig mjölkproduktion. Att korrekt utföra dessa mjölkningsrutiner har stor betydelse för att tillvarata kons produktionspotential

Projektets mål: Att erhålla relevant kunskap om hur mjölkningsrutinerna förstimulering och automatisk spenkoppsavtagning i samverkan ska utformas i AMS. Med denna kunskap kan bättre rådgivning ges till lantbrukarna om mjölkningsrutinernas betydelse för en uthållig mjölkproduktion.

Hypotes: Hypotesen för projektet var att kor som utfodrades under mjölkning skulle ha en högre och förlängd frisättning av oxytocin, vilket skulle leda till tillräcklig juvertömning även vid höga avtagningsnivåer.

Projektets genomförande

Båda studierna utfördes vid Nationellt forskningscentrum för lantbrukets djur, Uppsala-Lövsta.

Första studien genomfördes under ledning av Kerstin Svennersten-Sjaunja och Sabine Ferneborg vid institutionen för husdjurens utfodring och vård (HUV), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU). Analyser av fettsyrasammansättning och FFA utfördes vid inst. för livsmedelsvetenskap, SLU, under ledning av Jana Pickova och fettkulestorlek och membranstabilitet utförs av Lars Wiking, Århus universitet, Danmark. Analys av Na-K utfördes av Agrilab AB, Uppsala, Sverige.

Andra studien genomfördes under ledning av Emma Ternman, Sigrid Agenäs och Sabine Ferneborg vid institutionen för husdjurens utfodring och vård (HUV), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU). Analyser av FFA, fettkulestorlek och membranstabilitet utfördes av Lars Wiking, Århus universitet, Danmark.

Övriga mjölkanalyser utfördes vid HUV/SLU.

Studie A. Betydelsen av juvertömning på heljuvernivå i kombination med förstimulering för mjölkningseffektivitet och mjölkproduktion

Syftet med den första studien var att undersöka om foder under mjölkning i kombination med olika avtagningsnivåer på heljuvernivå påverkar juvertömning, juverhälsa, mjölmängd, mjölksammansättning och mjölkfett. Trettiofyra kor av rasen SRB fördelades lika i fyra försöksgrupper, för detaljerad information om korna se tabell 1. Försöksdesignen var en romersk kvadrat så alla kor testades på alla behandlingar.

Tabell 1. Laktationsnummer, dagar i laktation, mjölmängd och celltal för kor som ingick i försöket.

Specifikation	Antal
Laktationsnummer	1,8 ± 1
Dagar i laktation (d)	145 ± 51
Mjölmängd (kg/dag)	30,4 ± 7,3
Celltal (celler/ml)	< 100 000

Behandlingarna var:

- I: Foder under mjölkning + avtagning 780 g/min på heljuver
- II: Foder under mjölkning + avtagning 180 g/min på heljuver
- III: Inget foder under mjölkning + avtagning 780 g/min på heljuver
- IV: Inget foder under mjölkning + avtagning 180 g/min på heljuver

Korna hölls i stallet för AMS och sköttes i övrigt enligt gängse rutiner. Mjölkningsintervallet var $9,1 \pm 1,6$ timmar och varje behandlingsperiod pågick i

sju dagar. Sista behandlingsperioden blev uppskjuten i tre veckor på grund av ett utbrott av coronavirus i besättningen. Mjölksprovsvuttagnings och registreringar för mjölksammansättning genomfördes de tre sista dagarna och vid sista mjölkningen i varje behandlingsperiod mättes mängden residualmjölk hos fyra kor i varje försöksgrupp, totalt sexton stycken. Mjölksprovsvuttagnings för fettanalys från sex kor per grupp, totalt 24 stycken, genomfördes vid två tillfällen under de två sista dagarna i varje behandlingsperiod.

Provtyp	Provtagningsstillfälle	Provhantering	Analysmetod
Mjölk-sammansättning	Sista två dagarna varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	MIR-spektroskopi. Behandlingsperiod 1-2: Fourier transform instruments, FT120, Foss, Hillerød, Danmark.
Celltal	Sista två dagarna varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	Fluorescens-baserad cellräkning. Behandlingsperiod 1-2: Fossomatic 5000, Foss, Hillerød, Danmark.
FFA	Behandlingsdag 6	+4°C, nedfrysning till -20°C efter 46-50 timmar	En variant av Deeth <i>et al.</i> (1975)
Fettkulestorlek	Behandlingsdag 6	+4°C	Integrated light scattering (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) enligt Wiking <i>et al.</i> , 2004.
Membranstabilitet	Behandlingsdag 6	+4°C	Aktivitet av enzymet γ -glutamyl transpeptidas, enligt Wiking <i>et al.</i> , 2004.
Fettsyrasammansättning	Behandlingsdag 6	+4°C, nedfrysning till -20°C efter 46-50 timmar	Enligt Shingfield <i>et al.</i> (2003)
Na, K	Behandlingsdag 6	+4°C	ISP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy; Spectroblue FMX26, ISP-OES, Spectro analytical instruments, GmbH, Amtek Inc, US)
Residualmjölk-sammansättning	Sista mjölkningen i varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	MIR-spektroskopi. Behandlingsperiod 1: Fourier transform instruments, FT120, Foss, Hillerød, Danmark. Behandlingsperiod 3 och 5: LactoScope FTIR, Delta instruments, Drachten, Netherlands.
Residualmjölk-celltal	Sista mjölkningen i varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	Fluorescens-baserad cellräkning. Behandlingsperiod 1: Fossomatic 5000, Foss, Hillerød, Danmark.

Provtyp	Provtagningsstillfälle	Provhantering	Analysmetod
			Behandlingsperiod 3 och 5: Somscope, Delta instruments, Drachten, Netherlands.

Data analyserades med variansanalys i R (R Core Team, 2014).

Resultat och diskussion

Resultaten visade att den högre avtagningsnivån resulterade i ca 1 minuts kortare mjölkningstid. Även mjölkningsintervallet påverkades, och var ca 20 minuter kortare när avtagningsflödet var högt samt vid utfodring under mjölkning. Effekten på mjölkningsintervall bör tolkas med försiktighet, då mjölkningsintervallen var begränsade och kor hämtades till mjölkning. Utfodring under mjölkning påverkade mängden mjölk producerad per dygn samt mängden residualmjölk, men hade ingen effekt på mjölkflödet.

Fettsyrasammansättningen hos mjölken ändrades lite beroende på behandling, men dessa förändringar anses inte vara av någon större relevans. Mjölkfettkulemembranens stabilitet påverkades inte av behandlingarna, inte heller fettkulestorleken.

Studie A har resulterat i en publikation (Ferneborg *et al.* 2016). Studien var även en del av Sabine Ferneborgs doktorsavhandling (Ferneborg, 2016), samt två examensarbeten, varav ett på masternivå och ett på kandidatnivå.

Studie B. Effekten av olika avtagningsflöden på juvertömningen

Syftet med den andra studien var att undersöka om foder under mjölkning i kombination med olika avtagningsnivåer på juverfjärdedelsnivå påverkar juvertömning, juverhälsa, mjölmängd, mjölksammansättning och mjölkfett. Trettio kor (21 SRB och 9 SH) fördelades lika i sex försöksgrupper, för detaljerad information om korna se tabell 1. Försöksdesignen var en romersk kvadrat så alla kor testades på alla behandlingar.

Tabell 1. Laktationsnummer, dagar i laktation, mjölmängd och celltal för kor som ingick i försöket.

Specifikation	Antal
Laktationsnummer	2,9 ± 1,5
Dagar i laktation (d)	142 ± 25
Mjölmängd (kg/dag)	34,0 ± 11,7
Celltal vid försöksstart (celler/ml)	< 115 000

Behandlingarna var:

- I: Foder under mjölkning + avtagning 0.48 kg/min på juverfjärdedelsnivå
 II: Foder under mjölkning + avtagning 0.3 kg/min på juverfjärdedelsnivå
 III: Foder under mjölkning + avtagning 0.06 kg/min på juverfjärdedelsnivå
 IV: Inget foder under mjölkning + avtagning 0.48 kg/min på juverfjärdedelsnivå
 V: Inget foder under mjölkning + avtagning 0.30 kg/min på juverfjärdedelsnivå
 VI: Inget foder under mjölkning + avtagning 0.06 kg/min på juverfjärdedelsnivå

Korna hölls i stallet för AMS och sköttes i övrigt enligt gängse rutiner. Mjölkningsintervallet var under 8 timmar och varje behandlingsperiod pågick i sju dagar. Mjolkprovsvuttagnings och registreringar för mjölksammansättning genomfördes de två sista dagarna och vid sista mjölkningen i behandlingsperiod 1, 3 och 5 mättes mängden residualmjölk hos alla kor i varje försöksgrupp.

Provtyp	Provtagningsstillfälle	Provhantering	Analysmetod
Mjolk-sammansättning	Sista två dagarna varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	MIR-spektroskopi. Behandlingsperiod 1-2: Fourier transform instruments, FT120, Foss, Hillerød, Danmark. Behandlingsperiod 3-6: LactoScope FTIR, Delta instruments, Drachten, Netherlands.
Celltal	Sista två dagarna varje behandlingsperiod	Bronopol, +4°C	Fluorescens-baserad cellräkning. Behandlingsperiod 1-2: Fossomatic 5000, Foss, Hillerød, Danmark. Behandlingsperiod 3-6: Somascope, Delta instruments, Drachten, Netherlands.
FFA	Morgonmjölkningen under behandlingsdag 6	+4°C, nedfrysning till -20°C efter 46-50 timmar	Enligt Amer <i>et al.</i> , 2013.
Fettkulestorlek	Morgonmjölkningen under behandlingsdag 6	+4°C	Integrated light scattering (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) enligt Wiking <i>et al.</i> , 2004.
Membranstabilitet	Morgonmjölkningen under behandlingsdag 6	+4°C	Aktivitet av enzymet γ -glutamyl transpeptidas, enligt Wiking <i>et al.</i> , 2004.
Betahydroxybutyrat	Morgonmjölkningen under behandlingsdag 6	+4°C	Fluorometrisk bestämning enligt Larsen och Nielsen, 2005.
Kolesterol	Morgonmjölkningen under behandlingsdag 6	+4°C	Enligt Larsen, 2012.
Residualmjölk-sammansättning	Sista mjölkningen i behandlingsperiod 1, 3 och 5	Bronopol, +4°C	MIR-spektroskopi. Behandlingsperiod 1: Fourier transform instruments, FT120, Foss, Hillerød, Danmark.

Provtyp	Provtagningsstillfälle	Provhantering	Analysmetod
			Behandlingsperiod 3 och 5: LactoScope FTIR, Delta instruments, Drachten, Netherlands.
Residualmjölk- celltal	Sista mjölkningen i behandlingsperiod 1, 3 och 5	Bronopol, +4°C	Fluorescens-baserad cellräkning. Behandlingsperiod 1: Fossomatic 5000, Foss, Hillerød, Danmark. Behandlingsperiod 3 och 5: Somascop, Delta instruments, Drachten, Netherlands.

Data analyserades med variansanalys i SAS 9.3. Flödeskurvornas form analyserades i R (R Core Team, 2014), för att sedan analyseras med variansanalys i SAS 9.3.

Resultat och diskussion

Resultaten visade att den ökade avtagningsnivån förkortade mjölkningstiden med cirka 30 sekunder mellan avtagningsnivå 0.06 och 0.3 och 30 sekunder mellan avtagningsnivå 0.3 och 0.48 kg/min, totalt ca en minut mellan avtagningsnivå 0.06 och 0.48. Mjölmängden skilde sig inte mellan behandlingarna, och utfodring under mjölkning hade ingen effekt på någon av parametrarna som mättes.

Utfodring under mjölkning visade sig vara ineffektivt i denna studie, och påverkade varken mjölkningstid eller mjölkflöde, i kontrast till tidigare studier. En anledning till detta kan vara att korna hölls i ett så kallat FeedFirst-system, där de har ständig tillgång till grovfoder, men behöver passera en selektionsgrind till mjölkningsroboten för att ta sig till liggavdelningen. Det kan därför antas att en majoritet av korna hade ätit grovfoder nyligen innan mjölkning, och därför inte visade någon respons på utfodring under mjölkning. I tidigare studier på utfodring under mjölkning har korna berövats på foder 1,5 timmar eller mer innan mjölkning, för att sedan få nytt foder under mjölkning, och effekten av utfodring under mjölkning kan därför vara beroende av att kon inte har tillgång till foder innan mjölkning. Det har också visats att kor som har tillgång till friskt bete inte visar samma respons på utfodring under mjölkning, vilket ytterligare stöder teorin att den fria tillgången på grovfoder i denna studie kan ha påverkat effekten av utfodring under mjölkning. Effekten av utfodring under mjölkning på mjölknedsläpp, mjölkningstid, mjölkningsintervall samt tid i väntfällan i FeedFirst-system bör undersökas vidare i framtida studier.

Studie B har resulterat i en vetenskaplig publikation (Ferneborg *et al.* 2016), var en del av Sabine Ferneborgs doktorsavhandling (Ferneborg, 2016) samt kommer att utmytna i ännu ett manuskript som kommer att skickas in för publikation under våren 2017. Utöver detta har studien gett upphov till två examensarbeten för husdjursagronomer på masternivå, samt två konferensabstrakt som planeras presenteras under sommaren 2017. Resultaten kommer också att presenteras på Växas årsmöte 2017, för spridning till rådgivare och veterinärer. Den detaljerade

flödesdata som vi kunnat uthämta från studie B har lett till framtagning av nya analysmetoder för denna typ av data, vilket möjliggör detaljerad forskning rörande mjölkflöde hos SLU.

Slutsatser

Sammantaget har studierna i detta projekt visat att:

- Avtagningsnivån kan höjas på såväl heljuvernivå som juverfjärdedelsnivå utan negativa effekter på mjölmängden
- Höjd avtagningsnivå ger kortare mjölkningstid och möjliggör fler mjölkningar per dygn
- Ökning av avtagningsnivån ger inga betydande effekter på juvertömning eller mjölkfettet
- Effekten av utfodring under mjölkning behöver undersökas närmare

Projektet kommer att möjliggöra nya analysmetoder för mjölkflöde som kommer att ge unika möjligheter till mjölkkningsrelaterade studier i framtiden.

Referenser

- Adams, H.P. & Allen, N.N. 1952. The effect of removal of residual milk by use of oxytocin upon the yield and fat content of subsequent milkings. *J. Dairy Sci.* 35(12), 1121-1124.
- Amer, B. N., H. C. Bertram, G. Mortensen, K. Hermansen and T. K. Dalsgaard. 2013. Novel method for quantification of individual free fatty acids in milk using an in-solution derivatisation approach and gas chromatographymass spectrometry. *Int. Dairy J.* 32:199-203.
- Collier, R.J., Hernandez, N.D. & Horseman, N.D. 2010. Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. *Dom. Anim. Endocrinol.* 43:161-170
- Davis, K.L., Fulkerson, W.J., Garcia, S. C., Dickeson, D. & Barchia, I.M. 2008. Premilking teat preparation for australian pasture-based cows milked by an automated milking system. *J. Dairy Sci.* 91:2604-2609
- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H., & Wood, A. F. 1975. A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. *Australian Journal of Dairy Technology.* 30: 109–111.
- Edwards, J.P., Jago, J.G. & Lopez-Villalbos, N. 2013. Short-term application of prestimulation and increased automatic cluster remover threshold affect milking characteristics of grazing dairy cows in late lactation. *J. Dairy Sci.* In Press. doi:10.3168/jds.2012-6191
- Erdman, R.A. & Varner, M. 1995. Fixed yield responses to increased milking frequency. *J. Dairy Sci.* 78:1199-1203.
- Ferneborg, S., Agenäs, S. & Griinari, M. 2012. Influence of residual milk on milk yield and composition in dairy cows. Lactation research in mammals and humans: The mammary gland in health and disease, Uppsala, Sweden 4-5 December 2012.
- Ferneborg, S., Stadtmüller, L., Pickova, J., Wiking, L., & Svennersten-Sjaunja, K. 2016. Effects of automatic cluster removal and feeding during milking on milking efficiency, milk yield and milk fat quality. *Journal of Dairy Research* 83(2):180-187.
- Ferneborg, S. 2016. Milk Removal. Effect on milk yield, milk composition and milking efficiency in dairy cows. Doctoral Thesis 2016:90. SLU, Uppsala, Sweden.
- Hernandez, L.L., Stiening, C.M., Wheelock, J.B., Baumgard, L.H., Parkhurst, A.M. & Collier, R.J. 2008. Evaluation of serotonin as a feedback inhibitor of lactation in the bovine. *J. Dairy Sci.* 91, 1834-1844.
- Jago, J.G., Davis, K.L., Copeman, P.J. & Woolford, M.M. 2006. The effect of pre-milking teat-brushing on milk processing time in an automated milking system. *J. Dairy Res.* 73:187-192.

- Jago, J.G., Burke, J.L. & Williamson, J.H. 2010. Effect of automatic cluster remover settings on production, udder health, and milking duration. *J. Dairy Sci.* 93:2541-2549.
- Larsen, T. 2012. Enzymatic-fluorometric quantification of cholesterol in bovine milk. *Food Chemistry* 135:1261-1267.
- Larsen, T. and N.I. Nielsen. 2005. Fluorometric determination of β -Hydroxybutyrate in milk and plasma. *J. Dairy Sci.* 88:2004-2009.
- Linzell, J.L. & Peaker, M. 1971. The effects of oxytocin and milk removal on milk secretion in the goat. *J. of Physiol.* 216, 717-734.
- Matsuda, M., Imaoka, T., Vomachka, A.J., Gudelsky, G.A., Hou, Z., Mistry, M., Bailey, J.P., Nieport, K.M., Walther, D.J., Bader, M. & Horseman, N.D. 2004. Serotonin regulates mammary gland development via an autocrine-paracrine loop. *Development Cell* 6, 193-203.
- McGuire, M.A. & McGuire, M.K. 2010. Recent hot topics in human and bovine lactation including highlights from the ISHRML meeting. In: Agenäs, S., et al. (Eds.) *Proceedings of Lactation research in mammals and humans: The mammary gland in health and disease*, Uppsala, Sweden 2010. pp. 11-12: CRU. ISBN 978-91-576-9031-5.
- Nostrand, S.D., Galton, D.M., Erb, H.N. & Bauman, D.E. 1991. Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 2119-2127.
- Prescott, N., T. Mottram and A. Webster. 1998. Relative motivations of dairy cows to be milked or fed in a Y-maze and an automatic milking system. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 57: 23-33.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Samuelsson, B., Wahlberg, E. & Svennersten K. 1993. The effect of feeding during milking on milk production and milk flow. *Sw. J. Agric. Res.* 23:101-106
- Shingfield, K., S. Ahvenjarvi, V. Toivonen, A. Arola, K. Nurmela, P. Huhtanen, and J. M. Griinari. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science* 77(1):165-180.
- Svennersten, K., Gorewit, R.C., Sjaunja, L-O. & Uvnäs-Moberg, K. 1995. Feeding during milking enhances milking-related oxytocin secretion and milk production in dairy cows whereas food deprivation decreases it. *Acta Physiol. Scand.* 153:309-310
- Weiss, Weinfurter & Bruckmaier. 2004. Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3280-3289.
- Wiking, L., J. Stagsted, L. Björck and J.H. Nielsen. 2004. Milk fat globule size is affected by fat production in dairy cows. *Int. Dairy J.* 14:909-913.
- Wiking, L., Nielsen, J.H., Båvius, A-K., Edvardsson, A. & Svennersten Sjaunja, K. 2006. Impact of milking frequencies on the level of free fatty acids in milk. *J. Dairy Sci.* 89:1004-1009
- Wilde, C.J., Addey, C.V.P., Casey, M.J., Blatford, D.R. & Peaker, M. 1988. Feed-back inhibition of milk secretion: the effect of a fraction of goat milk on milk yield and milk composition. *Q. J. Exp. Physiol.* 73: 391-397.
- Woolford, M. W. 2004. Minimal milking routines: New Zealand Style. In NMC 43rd Annual Meetings proceedings, Febr 1-4, 2004, Charlotte, North Carolina. pp198-206.