

# Wageningen UR Livestock Research

*Partner in livestock innovations*



Rapport 450

## Gensignalen voor voerefficiëntie en methaanemissie

Verbeteren van voerefficiëntie en verlagen van methaanemissie met genomische selectie

Maart 2011



**LIVESTOCK RESEARCH**

**WAGENINGEN UR**

## Colofon

### Uitgever

Wageningen UR Livestock Research  
Postbus 65, 8200 AB Lelystad  
Telefoon 0320 - 238238  
Fax 0320 - 238050  
E-mail [info.livestockresearch@wur.nl](mailto:info.livestockresearch@wur.nl)  
Internet <http://www.livestockresearch.wur.nl>

### Redactie

Communication Services

### Copyright

© Wageningen UR Livestock Research, onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, 2011

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

### Aansprakelijkheid

Wageningen UR Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Wageningen UR Livestock Research en Central Veterinary Institute, beiden onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek vormen samen met het Departement Dierwetenschappen van Wageningen University de Animal Sciences Group van Wageningen UR (University & Research centre).

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponereerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

## Abstract

There are many possibilities to breed for improved feed efficiency and reduced methane emission of dairy cattle. However, the results are not that reliable yet to be implemented directly.

## Key words

Feed efficiency, methane emission, genomic selection, genetic markers, breeding values

## Referaat

ISSN 1570 - 8616

## Auteur(s)

Yvette de Haas  
Mario Calus  
Han Mulder  
Michel de Haan  
André Bannink  
Jan Dijkstra  
Jack Windig  
Roel Veerkamp

## Titel

Gensignalen voor voerefficiëntie en methaanemissie

Rapport 450

## Samenvatting

Er zijn veel mogelijkheden zijn om te fokken op een betere voerefficiëntie en een verlaagde milieubelasting van melkkoeien. De resultaten zijn echter nog niet betrouwbaar genoeg om direct in de praktijk te implementeren.

## Trefwoorden

Voerefficiëntie, Methaanemissie, Genomic selection, Merkers, Fokwaarden, Gensignalen



LIVESTOCK RESEARCH

WAGENINGEN UR

Rapport 450

## Gensignalen voor voerefficiëntie en methaanemissie

### Genomic selection to improve feed efficiency and reduce methane emission

Yvette de Haas

Mario Calus

Han Mulder

Michel de Haan

André Bannink

Jan Dijkstra

Jack Windig

Roel Veerkamp

Maart 2011

## **Dit project is gefinancierd door Productschap Zuivel en AgentschapNL**

Aan dit project is in het kader van het Besluit milieusubsidies, Subsidieregeling milieugerichte technologie een subsidie verleend uit het programma Reductie Overige Broeikasgassen dat gefinancierd wordt door het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie. AgentschapNL beheert deze regeling. Het AgentschapNL projectnummer is: ROBS080014

## Voorwoord

Voor u ligt het rapport van een kortlopende project dat als doel had om te laten zien dat het mogelijk is om met behulp van genomics technieken vooruitgang te boeken richting innovaties voor de melkveehouderij. In nauwe samenwerking met de primaire sector en de zuivel in een voortraject (Innovaties in de melkveehouderij via toegepaste genomica) zijn kansrijke thema's geïdentificeerd. In dit project richten we de aandacht op één van die kansrijke thema's, namelijk voerefficiëntie van melkkoeien, gecombineerd met de milieubelasting van de koe.

Een speciaal woord van dank gaat naar de medewerkers van voormalig proefbedrijf van Wageningen UR Livestock Research 't Gen voor de dataverzameling. Tevens bedanken we de klankbordgroep leden van het project "Innovatie in de melkveehouderij en zuivelsector via Toegepaste Genomica" voor de plezierige en constructieve discussies.



## Samenvatting

Het doel van dit pilotproject is om te tonen hoe met genomicakennis de praktische melkveehouderij vooruitgang kan boeken. Dit onderzoek brengt in kaart hoe via genomische selectie de voerefficiëntie van melkvee te verbeteren is, en wat mogelijke gevolgen voor methaanemissie zijn. Het specifieke doel was (1) om te achterhalen of genetische merkers beschikbaar zijn voor residuele voeropname of voerefficiëntie en (2) om de associatie te bepalen tussen de residuele voeropname en de methaanproductie berekend op basis van de droge stofopname en de rantsoensamenstelling.

### **Nu wel echte fokwaarde voor voerefficiëntie mogelijk**

In het verleden was het lastig om via de fokkerij voerefficiëntie te verbeteren. Hiervoor moet namelijk bij een groot aantal koeien regelmatig de voeropname gemeten worden. Deze gegevensverzameling is dus haast onmogelijk, zodat echt fokken op voerefficiëntie niet kon. Sinds 2006 is het mogelijk om genetische variatie tussen dieren te meten op DNA-niveau voor 54.001 merkers tegelijkertijd, tegen een betaalbare prijs. Bij genomische selectie wordt geselecteerd op basis van zogenoemde SNP-merkers verspreid over het hele DNA. Dit biedt perspectief voor een fokwaarde voor voerefficiëntie, zonder veel dure metingen.

In dit onderzoek is gebruik gemaakt van gegevens van het, inmiddels gesloten, proefbedrijf 't Gen. Van circa 600 dieren zijn DNA-gegevens en voeropnamegegevens beschikbaar.

### **Aanwijzing voor belangrijk gen, nog niet betrouwbaar genoeg**

Uit de analyses kwam één merker die statistisch significant lijkt te zijn voor residuele voeropname. Er is ook een aanwijzing dat deze merker geassocieerd is met een nabij gelegen gen dat mogelijk een effect heeft op de energiebalans/voerefficiëntie. Bij kippen is ditzelfde gen namelijk betrokken bij het energiemetabolisme.

Er is aangetoond dat met de merkers betrouwbaarder geselecteerd kan worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van de traditionele afstammingsgegevens. Met merkerinformatie is de betrouwbaarheid tweemaal zo groot. De betrouwbaarheid van deze schatting was met 27% nog steeds lager dan de publicatie-eis van 35%. Dit betekent dat de huidige dataset als referentiepopulatie te klein is. Een grotere populatie met zowel werkelijke (voeropname)data als genotypische data is nodig voor een betrouwbaardere schatting.

### **Berekende methaanproductie in dit onderzoek hoge correlatie met voerefficiëntie**

De methaanproductie is op twee verschillende manieren berekend. Eenmaal via de zogenoemde IPCC-regel, waarbij de methaanproductie overeenkomt met 6% van de bruto energie opname. Bij de tweede rekenmethode is rekening gehouden met het verschil in methaanproductie per voedermiddel. De rantsoensamenstelling is daarbij dus (beperkt) meegenomen.

De analyse heeft aangetoond dat goed te fokken is op methaanproductie, want de geschatte erfelijkheidsgraad is hoog (50%). Ook bleek dat de methaanproductie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan, want zowel de fenotypisch als de genetische correlatie is behoorlijk sterk (ongeveer 0,7). De correlatie tussen de berekende methaanproductie en melkproductie was negatief, maar lager dan 0,6. Dit betekent dat fokken op een hogere melkgift niet de methaanproductie gelijktijdig één-op-één zal verminderen.

### **Aanbevelingen voor vervolg**

Op basis van de huidige (referentie)populatie is er geen merker gevonden voor de methaanproductie, berekend op basis van de droge stofopname. In vervolgonderzoek willen we graag eenzelfde analyse herhalen voor werkelijke methaanbepalingen aan koeien. Maar gegevens van dieren met werkelijke methaanemissies zijn schaars.

Uit dit onderzoek blijkt dat er veel mogelijkheden zijn om te fokken op een betere voerefficiëntie en een verlaagde milieubelasting van de Nederlandse melkkoeien. De resultaten zijn echter nog niet betrouwbaar genoeg om direct in de praktijk te implementeren. Door nu inhoudelijk onderzoek te verrichten naar voerefficiëntie en methaanemissie heeft WUR ook aansluiting met buitenlands onderzoek. Daarom zijn er goede mogelijkheden om de analyse uit te breiden met meer data, zodat het resultaat betrouwbaarder wordt en mogelijk wel in de praktijk te implementeren is.





## Summary

The aim of this pilot study was to show how dairy cattle farming can be improved with knowledge on genomics. This study shows how selection for feed efficiency of dairy cattle can be improved with genomic selection, and what possible effects of this for methane emission are. The specific aim was (1) to identify genetic markers for feed efficiency or residual feed intake, and (2) to determine the association between residual feed intake and methane production based on dry matter intake and diet composition.

### **Possibilities for breeding values for feed efficiency**

In the past it was difficult to breed for feed efficiency because it requires that feed intake is regularly measured on a large number of cows. This data collection can only be done with lots of money and labour, and therefore breeding for feed efficiency has not been possible so far. Since 2006 it is possible to measure the genetic variation among animals on DNA-level for 54,001 markers. Selection with genomic selection occurs on the basis of so-called SNP-markers, distributed over the whole genome. This opens up the possibilities to estimate breeding values for feed efficiency without the need of many feed intake records.

In this study we used data of the former experimental farm 't Gen. Data of almost 600 cows with feed intake records and DNA samples was available.

### **One genetic marker, although not reliable yet**

The analyses showed one genetic marker that is statistically significantly associated with residual feed intake. This SNP is located on Bos Taurus chromosome 21 and is in extremely close proximity to, and appears in association with, a gene that has been previously reported as playing an essential role in regulating adipogenesis, glucose homeostasis and energy metabolism.

A higher reliability of the breeding values is shown when estimated based on both pedigree and marker information (27%), compared to estimated based on only pedigree information (14%). However, the estimated reliability is still too low for national publication of the breeding values (minimal reliability of 35%). To get breeding values that meet the national requirements, we need a larger dataset that includes both phenotypic data on feed intake and genotypic data on markers.

### **Predicted methane production highly correlated with residual feed intake**

The methane production is calculated in two different ways. The first calculation is the so-called IPCC-calculation, where the methane production equals 6% of the gross energy intake. The second calculation differentiates in the methane production per feed. Therefore, the diet composition is incorporated in this calculation.

A large part of the variation among animals in the produced methane can be explained by their genetics, since a heritability of 50% was estimated. By selecting cows with low residual feed intake, you can lower the predicted methane production of the cows. Both the phenotypic and genetic correlation was approximately 0.7. The genetic correlation between predicted methane production and milk yield was negative in early lactation, but lower than 0.6. This indicates that selecting for high producing cows with not lower their methane production simultaneously.

### **Recommendations**

No genetic marker for methane production is found based on the available data. In further research we would like to repeat the analyses with data of real methane emissions. However, unfortunately, this data is very scarce. For this we need to set up international collaborations, and because of this pilot study it is easier to set up consortia with other partners.

The pilot has shown that there are many possibilities to breed for improved feed efficiency and reduced methane production. However, the estimated breeding values are not reliable enough yet to be implemented directly. By increasing the amount of data available by joining international consortia we believe that reliable breeding values can be estimated and can then be implemented in the national breeding scheme as well.



# Inhoudsopgave

Voorwoord

Samenvatting

Summary

<b>1</b>	<b>Waarom dit onderzoek?</b>	<b>1</b>
1.1	Doelstelling van het project	2
<b>2</b>	<b>Wat was beschikbaar voor dit onderzoek?</b>	<b>3</b>
2.1	Genomische selectie	3
2.2	Data	3
2.3	Kenmerken/fenotypen	3
2.4	Genotypen	4
<b>3</b>	<b>Wat gedaan in dit onderzoek?</b>	<b>5</b>
3.1	Data editing	5
3.2	Statistische analyses	5
<b>4</b>	<b>Wat heeft dit onderzoek opgeleverd?</b>	<b>8</b>
4.1	Voerefficiëntie	8
4.1.1	Erfelijkheidsgraad van voerefficiëntie	8
4.1.2	Betrouwbaarheid van fokwaarden	8
4.1.3	Indicatieve merkers voor voerefficiëntie	9
4.1.4	Mogelijkheden voor verbetering resultaten	9
4.2	Berekende methaanproductie	10
4.2.1	Droge stofopname	10
4.2.2	Fenotypische correlaties	11
4.2.3	Effect van lactatiestadium	12
4.2.4	Fenotypische correlatie per lactatiestadium	14
4.2.5	Genetische parameters	14
4.2.6	Merkerinformatie voor berekende methaanproductie	16
<b>5</b>	<b>Hoe zijn de resultaten van dit onderzoek te interpreteren?</b>	<b>17</b>
5.1	Wat is de toepassing van berekende methaanproductie?	17
5.2	Zijn er veranderingen in SNP's door de tijd en tussen rassen?	17
5.4	Wat is de correlatie tussen werkelijke en berekende methaanproductie?	17
5.5	Wat zijn de economische en milieuaspecten van fokkerij?	18
5.6	Wat is de toepasbaarheid in de sector en zijn er niet-technische aandachtspunten?	19
<b>6</b>	<b>Wat is het toekomstperspectief van dit onderzoek?</b>	<b>20</b>
6.1	Wat kan de praktijk ermee?	20
6.2	Wat is er nodig om pilot praktijkrijp te maken?	20
<b>7</b>	<b>Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>21</b>
<b>8</b>	<b>Referenties</b>	<b>22</b>
8.1	Publicaties uit dit project	22
<b>9</b>	<b>Verkorte samenvatting/Short summary</b>	<b>23</b>
<b>10</b>	<b>Uitgebreide samenvatting voor AgentschapNL</b>	<b>24</b>

## 1 Waarom dit onderzoek?

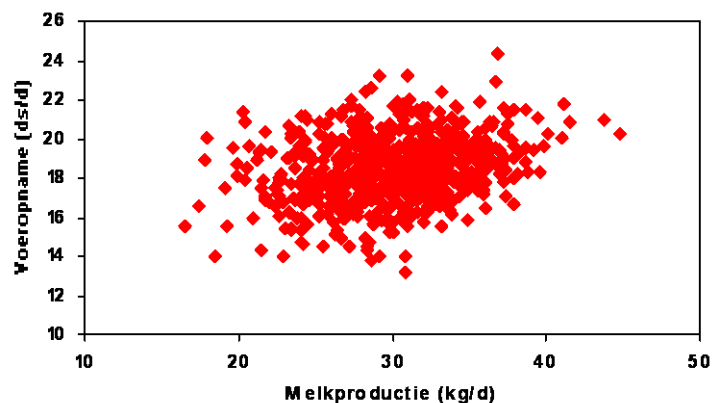
Voor de Nederlandse melkveehouderij is economisch en efficiënt produceren belangrijk. Via innovaties op het gebied van voeding, fokkerij, huisvesting en management is Nederland één van de toonaangevende melkveehouderij landen geworden in de wereld. Voor de toekomst is het belangrijk dat de Nederlandse veehouderij blijft innoveren om o.a. de arbeidsdruk te verminderen, de kostprijs te reduceren, duurzaam te produceren en het management voor grootschalige melkveehouderij te ondersteunen.

Tijdens een workshop met sectorvertegenwoordigers (veehouders, LTO, LNV, bedrijfsleven en productschappen) bleek dat genomica nog een vrij onbekend gebied was voor de melkveepraktijk. Wel leek dit vakgebied een goede bijdrage te kunnen leveren aan een duurzame melkveehouderij in Nederland. Verder bleek dat de melkveehouderij sector voerefficiëntie belangrijk vindt, omdat een hogere voerefficiëntie zorgt voor lagere voerkosten per koe en wellicht mogelijkheden biedt voor een vermindering van de emissie van broeikasgassen naar het milieu (De Haan et al., 2008). Om genomicskansen voor de praktische melkveehouderij in beeld te brengen, is toen besloten om een pilot uit te voeren om via genomica voerefficiëntie te verbeteren en methaanemissie te verlagen.

In het verleden was het lastig om via de fokkerij voerefficiëntie te verbeteren. Hiervoor moet namelijk in het fokprogramma bij een groot aantal koeien regelmatig de voeropname gemeten worden. Dit laatste is niet te realiseren zonder een grote inspanning op de praktijkbedrijven. De gegevensverzameling is dus erg onpraktisch en duur, en daardoor incompleet. Dit resulteert erin dat correlaties tussen voerefficiëntie en andere kenmerken (zoals melkproductie, lichaamsconditie, energiebalans e.d.) niet betrouwbaar geschat kunnen worden voor iedere stier, waardoor fokken voor voerefficiëntie met de klassieke fokmethode ook nadelige gevolgen kan hebben voor bijvoorbeeld de energiebalans (Veerkamp and Koenen, 1999). Ogenschijnlijk efficiëntere koeien kunnen namelijk ook een meer negatieve energiebalans hebben in het begin van de lactatie.

Sinds 2006 is het mogelijk om genetische variatie tussen dieren te meten op DNA-niveau voor 54.001 merkers tegelijkertijd tegen betaalbare prijs (Schnelling et al., 2007). Hierdoor volstaat het om van een beperkt deel van de populatie de voeropnamegegevens te verzamelen en daarnaast stieren en koeien te genotyperen. Daardoor wordt het selecteren op voerefficiëntie een stuk praktischer en goedkoper, zowel voor veehouders, als voor fokkerij- en KI-bedrijven. De verwachting is dat deze merkers een belangrijke rol spelen om de genetische variatie in voeropname en voerefficiëntie in kaart te brengen, aangezien deze merkers werken als gensignalen. Als de relatie tussen de merkers en fenotypische data (voeropnamebepalingen) is geschat in een referentiepopulatie, kunnen de merkereffecten (gensignalen) gebruikt worden om te selecteren in de nationale populatie. Het zal altijd belangrijk blijven om de merkers te blijven relateren aan de fenotypische data, maar het is niet meer nodig om continu voeropname te meten bij veel proefstierdochters op veehouderijbedrijven. Met genomische selection verminder je het benodigde aantal records – niet ieder dier moet prestatiegegevens van zichzelf of van gerelateerde dieren hebben – maar er is nog wel een inspanning nodig om records te blijven verzamelen. Hiermee wordt de referentiepopulatie up-to-date gemaakt.

Er is veel variatie tussen koeien in voeropname. Dit wordt geïllustreerd in figuur 1 gebruikmakend van ruwe gegevens van het voormalige proefbedrijf 't Gen. Bijvoorbeeld, vaarzen die gemiddeld 30 kg melk per dag gaven, varieerden in hun voeropname van 14 tot 23 kg droge stof (ds) per dag.



**Figuur 1** De voeropname (in kg droge stof (ds) per dag) per melkproductie (in kg per dag) van de vaarzen op het voormalig proefbedrijf 't Gen (1990-1997)

Het rantsoen van deze vaarzen was vergelijkbaar. Desondanks spelen factoren zoals verschil in melksamenstelling, gewichtsverandering of groei, verloop van verteringsprocessen, en nutriëntenbehoefte voor onderhoudsprocessen een rol bij deze verschillen. Voor de veehouder is het belangrijk die koeien te selecteren die -voor een gegeven meetmelkproductie en gelijkblijvend lichaamsgewicht- minder voer op hoeven te nemen, dan koeien die meer voer op moeten nemen voor dezelfde melkproductie. Om de associatie te leggen met de werkelijke voerefficiëntie is de data nog verder opgeschoond tijdens de analyses, waarbij de data gecorrigeerd worden voor verschillen in lichaamsgewicht/groei, voederwaarde rantsoen, melksamenstelling etc.

Als maat voor voerefficiëntie wordt vaak de residuele voeropname uitgerekend. De residuele voeropname is het verschil tussen de opgenomen energie met het voer en de energie die nodig is voor productie (melk) en onderhoud (als afgeleide van lichaamsgewicht). Hiermee kijk je dus naar verschillen in voeropname, nadat de verschillen in melkproductie en gewicht zijn weggenomen. Dieren die een hoge residuele voeropname hebben bij een bepaalde melkproductie zetten voer minder efficiënt om in melk dan dieren met een lage residuele voeropname en eenzelfde melkproductie. Door de hoge residuele voeropname (lage voerefficiëntie) komt er relatief meer voer in de pens dat daar gefermenteerd wordt. Hierbij komt dan meer methaangas per kg melk vrij dan bij koeien die een kleinere hoeveelheid voer opnemen. De aanname is dat als je die dieren kunt selecteren met een hogere voerefficiëntie, dat je dan indirect selecteert voor dieren met een lagere methaanemissie. Indirect kan de lachgasemissie ook gereduceerd worden doordat dieren met een hoge voerefficiëntie minder mest produceren, waardoor er minder stikstof bij de bemesting zal verdwijnen.

Een kwantitatieve studie in Australië met 76 ossen heeft al aangetoond dat er inderdaad minder methaan wordt uitgestoten door dieren die genetisch enkele generaties geselecteerd zijn op een lage residuele voeropname, dan door dieren die genetisch geselecteerd zijn op een hoge residuele voeropname (Hegarty et al., 2007). Strikt gesproken kan een verbeterde voerefficiëntie ook komen van een hogere vertering met een hoger emissieniveau. Dit geeft aan dat de definitie van voerefficiëntie en methaanemissie een belangrijk onderwerp van onderzoek kan zijn. Eigenlijk zijn op grote schaal methaanemissie metingen nodig om de werkelijke associatie te leggen tussen voerefficiëntie en methaanemissie. Deze zijn wereldwijd nog niet beschikbaar voor melkvee.

## **1.1 Doelstelling van het project**

Het doel van dit pilotproject is om te laten zien dat het mogelijk is om met genomics kennis praktische vooruitgang te boeken voor de melkveehouderij. Dit onderzoek brengt in kaart hoe via genomische selectie de voerefficiëntie van melkvee te verbeteren is, en de methaanemissie te verminderen. Specifiek doel is om te achterhalen of genetische merkers (gensignalen) beschikbaar zijn voor residuele voeropname/voerefficiëntie. Dit zou betekenen dat melkveehouders uiteindelijk stieren kunnen selecteren op basis van hun fokwaarde voor voerefficiëntie. Aangezien de werkelijke methaanemissie niet bekend is van de koeien, is de methaanproductie berekend om een indicatie te geven. Middels genetische en genomische analyses zal gekeken worden of het kenmerk ook een erfelijk component heeft en of er merkers gevonden kunnen worden, zodat erop geselecteerd kan worden.

## 2 Wat was beschikbaar voor dit onderzoek?

### 2.1 Genomische selectie

Genomica is de studie van het complete genoom van een organisme. Met het genoom wordt de complete DNA-volgorde van één volledige set van chromosomen bedoeld. De informatie die afgeleid kan worden vanuit de structuur en de activiteit van het genetisch materiaal vatten we samen onder de gesignalen. Zowel *structurele* aspecten (onderzoek naar de aanwezigheid van bepaalde genvarianten) als *functionele* aspecten (onderzoek naar de activiteit en werking van genen) worden meegenomen in genomica-onderzoek. In dit onderzoek richten we ons op de structurele variatie in het genoom.

Bij genomische selectie wordt geselecteerd op basis van vele 'single nucleotide polymorphisms', de zogenoemde SNP-merkers (54.001) verspreid over het hele genoom. In een fokprogramma met genomische selectie wordt van een (beperkte) referentiepopulatie de merkervarianten en prestatiegegevens verzameld. Met behulp van statistische technieken worden de fokwaarden van de merkers geschat door merkervarianten te associëren met de prestatiegegevens (in ons geval voerefficiëntie en berekende methaanproductie). Vervolgens worden de merkervarianten bepaald voor jonge potentiële selectiekandidaten. De merkervarianten van deze jonge stieren worden gebruikt om de totale fokwaarde voor deze stieren te berekenen, met behulp van de merkerfokwaarden die bepaald zijn in de referentiepopulatie.

De statistische methodiek om deze analyses te draaien is de afgelopen jaren sterk ontwikkeld en staat tot onze beschikking. Dat biedt mogelijkheden om ook kenmerken te analyseren die eerder moeilijk op grote schaal te verkrijgen waren.

### 2.2 Data

In de jaren '90 zijn van bijna 700 vaarzen gegevens verzameld op het voormalig proefbedrijf 't Gen (Lelystad). Deze vaarzen zijn geboren tussen 1990 en 1997 en stammen af van in totaal 98 verschillende stieren, waarbij 1 stier 36 nakomelingen had, maar de meeste stieren 5 tot 10. Alle dieren werden in één stal gehuisvest onder dezelfde (milieu)omstandigheden. Gedurende de eerste 300 dagen (42 weken) van de lactatie zijn gegevens van de dieren nauwkeurig geregistreerd. De vaarzen zijn in de eerste 100 dagen van de lactatie niet geïnsemineerd. De geregistreerde gegevens die belangrijk zijn voor deze studie zijn (1) melkproductie, met vet-, eiwit- en lactose-gehalte (wekelijks gemeten op een vaste dag), (2) lichaamsgewicht (wekelijks gemeten op een vaste dag) en (3) voeropname (op alle werkdagen gemeten). Ook de rantsoensamenstelling werd geregistreerd voor ieder dier en de koeien werden *ad lib* gevoerd.

In die jaren zijn ook bloedmonsters genomen van de dieren en opgeslagen in een vriezer. In 2009 kon uit 588 bloedmonsters goed DNA geëxtraheerd worden dat vervolgens gegenotypeerd is door ServiceXS (Leiden, Nederland).

### 2.3 Kenmerken/fenotypen

De residuele voeropname (MJ/dag) is gedefinieerd als het verschil in energieopname via het voer en de energiebehoefte voor de melkproductie (kg melk, vet en eiwit) en voor onderhoud als functie van het lichaamsgewicht. De residuele voeropname is een maat voor voerefficiëntie, waarbij koeien die efficiënt omgaan met hun voer een lage residuele voeropname hebben.

1. Om de methaanproductie te berekenen zijn twee rekenregels toegepast. De eerste rekenregel is de zogenoemde IPCC-regel, waarbij de methaanproductie overeenkomt met 6% van de bruto energie opname. Bij deze rekenregel worden de volgende aannamen gemaakt: Het bruto energiegehalte van het voer is gelijk aan 18,4 MJ/kg ds (droge stof).
2. De energie-inhoud van methaan is 0,05565 MJ/gram methaan.
3. Per extra voerniveau daalt methaan per eenheid voerniveau met 4%. Voerniveau is een maatstaf voor de hoeveelheid voer die wordt opgenomen relatief ten opzichte van een standaardniveau. Het standaardniveau is een niet-lacterende, niet-drachtige koe met een lichaamsenergiebalans van nul (geen netto toe- of afname van energie in het lichaam). Wanneer het voerniveau toeneemt, verblijft voer relatief kortere tijd in de pens, waardoor de microben minder tijd hebben het voer te

fermenteren en er per eenheid voer minder methaan gevormd wordt. Bovendien daalt de zuurgraad en neigt het patroon van vluchtige vetzuren bij hogere opname naar een groter aandeel propionzuur, wat methaanproductie vermindert (Bannink et al., 2008). Het voerniveau wordt uitgedrukt in aantal keren de hoeveelheid voer die benodigd is voor de onderhoudsbehoefte en wordt berekend aan de hand van lichaamsgewicht, voeropname (kg ds) en energiewaarde van het rantsoen.

$$\begin{aligned} \text{Rekenregel 1: methaan (g/d) =} & \quad \text{voeropname (kg DS/d)} \\ & \quad \times 18,4 \text{ (MJ/kg DS)} \\ & \quad / 0,05565 \text{ (MJ/g)} \\ & \quad \times 6\% \\ & \quad \times [1 + (2,38 - \text{voerniveau}) \times 4\%] \end{aligned}$$

Bij de tweede rekenmethode om de methaanproductie te berekenen wordt er rekening mee gehouden dat de methaanproductie varieert per voedermiddel. In Nederland is de methaanproductie op een gemiddeld rantsoen ongeveer 20 g/kg ds. Dit gemiddelde rantsoen bestaat voor 25% uit maïs, en maïs geeft 20% minder methaanproductie per kg droge stof dan gras/kuil. Voor methaanproductie van maïs is 16,8 g/kg ds aangehouden, en voor van gras/graskuil is dat 21,0 g/kg ds en voor krachtvoer (incl. soja etc.) 21,0 g/kg ds.

$$\begin{aligned} \text{Rekenregel 2: methaan (g/d) =} & \quad [\text{gras (kg DS/d)} \times 21,0 \text{ (g/kg DS)} \\ & \quad + \text{krachtvoer (kg DS/d)} \times 21,0 \text{ (g/kg DS)} \\ & \quad + \text{maïssilage (kg DS/d)} \times 16,8 \text{ (g/kg DS)} ] \\ & \quad \times [1 + (2,38 - \text{voerniveau}) \times 4\%] \end{aligned}$$

## 2.4 Genotypen

De genotypering met de Illumina 60k Bovine SNP Chip levert 54.001 SNP's (merkers) op per dier. Deze SNP's zijn verspreid over het hele genoom en zijn mogelijk gekoppeld met genen die bepaalde kenmerken beïnvloeden. Deze data is gebruikt om merkers (gensignalen) te identificeren die geassocieerd zijn met de residuele voeropname en de berekende methaanproductie. Tevens is onderzocht in welke mate de nauwkeurigheid van selectie voor residuele voeropname toeneemt, wanneer SNP informatie toegevoegd wordt aan afstammingsgegevens bij de fokwaardeschatting.

### 3 Wat gedaan in dit onderzoek?

#### 3.1 Data editing

##### Voerefficiëntie

Verschillende stappen zijn ondernomen om onbruikbare en/of onbetrouwbare residuele voeropname en SNP-gegevens uit de data te verwijderen. Na het opschonen van de data waren van 527 dieren zowel de data van de gemiddelde residuele voeropname in de eerste 100 dagen bekend, als de data van 43.011 SNP's. De twee datastromen met fenotypen en genotypen zijn aan elkaar gekoppeld en statistisch geanalyseerd.

##### Berekende methaanproductie

Omdat methaanproductie berekend wordt door onder andere te delen door voeropname leiden afwijkende waarden in voeropname tot extreem afwijkende waarden in methaanproductie. Daarom zijn extreme waarden uit de data gefilterd. Per lactatieweek (1 t/m 40) is voor elk kenmerk het gemiddelde en de standaarddeviatie berekend. Waarden die meer dan 3x de standaarddeviatie onder of boven het gemiddelde lagen zijn verwijderd. Meestal betrof dit waarden waarbij de droge stof opname dicht tegen de 0 gram/dag aanlag.

In tabel 1 staan de gemiddelde, minimale en maximale waarden van een aantal belangrijke kenmerken in de geanalyseerde dataset, zoals de melkproductie en -gehalten, de voeropnamegegevens, het lichaamsgewicht, de residuele voeropname en de berekende methaanproductie volgens de twee rekenregels, uitgedrukt in (1) gram per dag, (2) gram per kg opgenomen droge stof en (3) gram per kg geproduceerde meetmelk.

**Tabel 1** Beschrijving van de dataset met gemiddelde, minimale en maximale waarde van diverse kenmerken en de bijbehorende standaarddeviatie (std.dev.). Methaan 1 is berekend volgens de eerste rekenregel, en methaan 2 is berekend volgens de tweede rekenregel.

	Gem.	Min.	Max.	Std.dev.
Melk (kg/dag)	28,95	5,60	46,80	5,43
Vetpercentage	4,07	1,66	10,57	0,67
Eiwitpercentage	3,54	2,38	5,83	0,32
Meetmelk (kg/dag)	29,31	5,90	53,90	4,71
Voeropname (kg/dag)	30,81	6,05	47,50	5,13
Droge stof opname (kg/dag)	19,92	3,92	30,46	3,14
Lichaamsgewicht (kg)	550,75	411,00	783,00	52,73
Residuele voeropname (MJ/dag)	12,85	-94,00	78,58	19,94
Methaanproductie 1 (gram/dag)	371,21	114,43	518,48	45,02
Methaan 1 per kg ds	18,49	16,82	20,81	0,44
Methaan 1 per kg meetmelk	12,93	4,77	46,44	2,36
Methaanproductie 2 (gram/dag)	360,06	111,13	505,70	43,95
Methaan 2 per kg ds	17,93	16,41	20,27	0,45
Methaan 2 per kg meetmelk	12,55	4,61	45,30	2,30

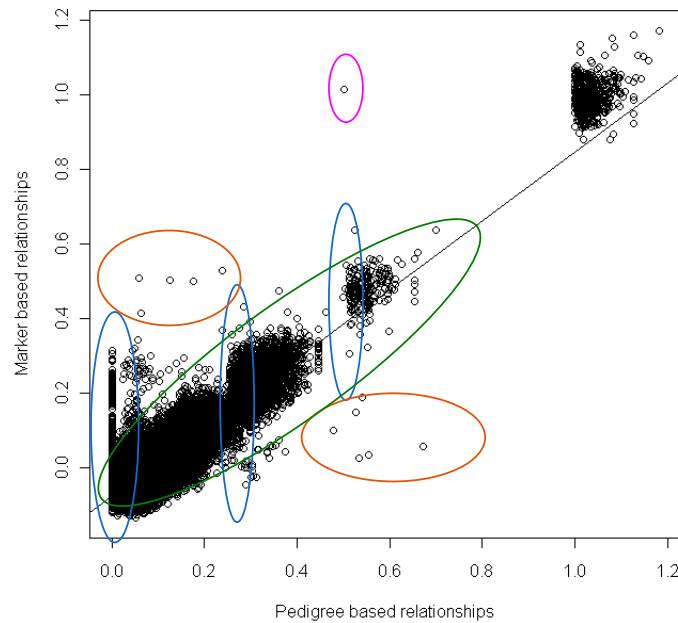
#### 3.2 Statistische analyses

##### Voerefficiëntie

In eerste instantie zijn de residuele voeropnamen gecorrigeerd voor jaar-seizoen van afkalven en leeftijd bij afkalven. Op basis van deze gecorrigeerde fenotypische gegevens is voor 43.011 SNPs het effect op residuele voeropname geschat. Het hiervoor gebruikte model probeert SNP's te onderscheiden die een sterke relatie hebben met de residuele voeropname. Deze SNP's worden verondersteld gekoppeld te zijn aan genen met een belangrijk effect op de residuele voeropname. Daarnaast helpen de SNP's om nauwkeuriger de relaties tussen verschillende dieren te bepalen, alsmede het koppelen aan de verschillende posities op het genoom. Zo kan bijvoorbeeld de relatie tussen twee koeien die beiden afstammen van dezelfde stier, een stuk nauwkeuriger worden bepaald met SNP's dan met afstammingsgegevens. Daarnaast kunnen verwantschappen op basis van afstammingsgegevens en SNP's met elkaar worden vergeleken, om dieren uit te filteren waarvan de afstammingsgegevens niet kloppen of waarvan DNA monsters omgewisseld zijn.



In figuur 2 staat op de x-as de verwantschap tussen dieren op basis van hun afstammingsgegevens en op de y-as op basis van hun merkerinformatie. In de groene cirkel staan verwantschappen die op basis van beide informatiebronnen vergelijkbaar zijn. Daarin zitten logischerwijs de meeste koeien. In de blauwe cirkels zitten koeien die op basis van hun afstamming ofwel onverwant zijn (relatie = 0), ofwel halfzussen zijn (relatie = 0,25), ofwel volle zussen (relatie = 0,5), maar de merkerinformatie laat dan een veel grotere range aan verwantschappen zien. Dat zou kunnen duiden op fouten die ooit in de afstammingsgegevens zijn geslopen, of het verwisselen van DNA monsters. De paarse cirkel laat een eeneiige tweeling zien. Die staan geregistreerd als volle zussen (relatie = 0,5), maar ze zijn identiek (relatie = 1). Dieren die de grootste afwijkingen veroorzaken, en waarvan de afstammingsgegevens of de SNP informatie incorrect zijn, zijn verwijderd in het proces van opschonen.



**Figuur 2** De verwantschap (relatie) tussen dieren op basis van hun afstammingsgegevens (x-as) en de merkerinformatie (y-as)

### Berekende methaanproductie

De data zijn eerst fenotypisch geanalyseerd. Voor berekende methaanproductie, de berekende residuele voeropname en de gemeten meetmelkproductie (dit is de melkproductie gecorrigeerd voor vet- en eiwitgehalte) is de variatie over de lactatie in kaart gebracht door de gemiddelden en standaarddeviatie per week te berekenen. De verbanden tussen de variabelen zijn geanalyseerd door de correlaties te berekenen. Om te zien of het verband tussen berekende methaanproductie, meetmelk en residuele voeropname verandert over het lactatiestadium zijn de correlaties tussen methaan en meetmelk en tussen methaan en residuele voeropname ook berekend per lactatiestadium van 5 weken.

In de genetische analyses is de variatie over het lactatiestadium meegenomen in een random regressiemodel. Hierbij wordt de genetische variatie over het lactatiestadium berekend als een functie van het aantal weken in lactatie. Door de restvariantie (= dat deel van de variatie dat niet verklaard wordt door de factoren in het model) ook per lactatieperiode te schatten, kan het verloop in erfelijkheidsgraad en in genetische correlaties gedurende de lactatie worden berekend. Ook is rekening gehouden met de leeftijd bij afkalven en het jaar en seizoen waarin de data zijn verzameld, door deze als fixed effects in het model op te nemen.

Uiteindelijk is het volgende stiermodel gebruikt om de effecten te schatten  
 $y = \mu + \text{lactatieweek} + \text{afkalfleeftijd} + \text{jaar-seizoen} + \text{week} \times \text{stier} + e$

waarbij:

y	het kenmerk dat is gemeten voor een bepaald dier;
lactatieweek	het aantal weken na afkalven, meegenomen als een 9de graads polynoom op week;
afkalfleeftijd	de leeftijd bij het afkalven van de vaars, meegenomen als een 3e graads polynoom;
jaar-seizoen	de combinatie van het jaar en seizoen;
week*stier	het effect van de vader als 1ste graads polynoom en het aantal weken na afkalven;
e	de restterm.

Aan het effect van de stier is de verwantschapsmatrix gekoppeld, berekend uit de stamboom/afstammingsgegevens, zodat de mate van erfelijkheid bepaald kan worden.

## 4 Wat heeft dit onderzoek opgeleverd?

### 4.1 Voerefficiëntie

#### 4.1.1 Erfelijkheidsgraad van voerefficiëntie

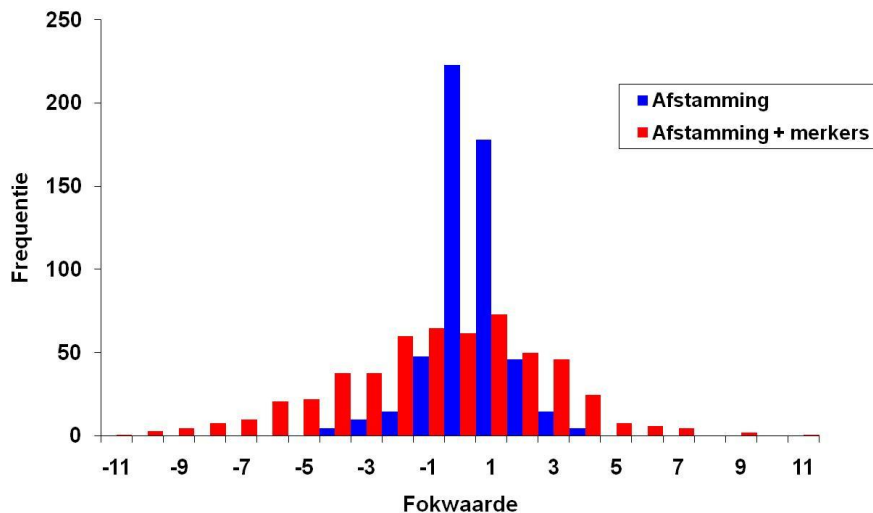
Om te kunnen fokken op een kenmerk moet er allereerst variatie zijn tussen dieren. Alleen dan kan onderscheid gemaakt worden tussen de goede en minder goede dieren. Ten tweede moet een deel van die variatie tussen dieren verklaard worden door de genetische aanleg van de dieren. Het deel van de variatie dat genetisch is, wordt uitgedrukt in een erfelijkheidsgraad.

De geschatte erfelijkheidsgraad van voerefficiëntie is 0,325. Dat betekent dat ruim dertig procent van de variatie tussen dieren verklaard kan worden door de genetische aanleg van de dieren.

Melkproductie heeft een vergelijkbare erfelijkheidsgraad, en de afgelopen decennia hebben duidelijk aangetoond dat melkgift een kenmerk is waarop veel genetische vooruitgang te boeken is.

#### 4.1.2 Betrouwbaarheid van fokwaarden

Uit dit onderzoek blijkt dat met de merkers beter geselecteerd kan worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van de traditionele afstammingsgegevens. De fokwaarden voor residuele voeropname geschat met behulp van merkers hadden een spreiding die 2x groter was dan de fokwaarden geschat zonder merkers (Figuur 3). De blauwe balken geven de fokwaarden voor residuele voeropname aan wanneer die fokwaarden geschat zijn met alleen afstammingsgegevens, en de rode balken geven de fokwaarden aan wanneer deze geschat zijn met de merkerinformatie erbij. De spreiding in die laatste is ruim 2x zo groot (variërend van -11 tot +11 MJ/dag rondom het gemiddelde, in vergelijking met een variatie tussen -4 en +4 MJ/dag). Een grotere spreiding betekent dat genetische verschillen tussen dieren beter opgepikt kunnen worden. Oftewel, de goede stier kan beter onderscheiden worden van de minder goede stier voor wat betreft dit kenmerk.

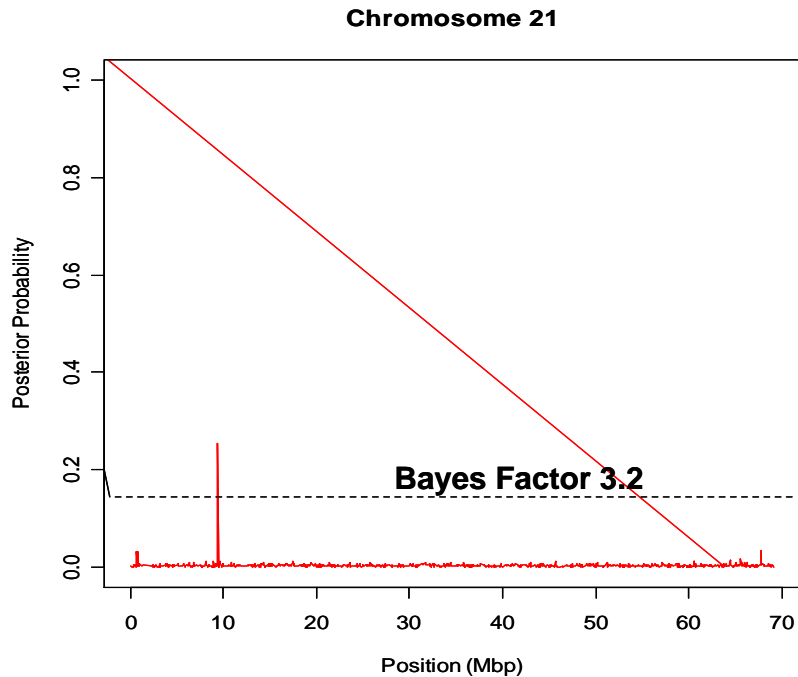


**Figuur 3** De frequentie van de fokwaarden voor de residuele voeropname (in MJ/dag) van de vaarzen op het voormalig proefbedrijf 't Gen. Een fokwaarde van 0 betekent genetisch een gemiddelde residuele voeropname.

Ook de betrouwbaarheid van de geschatte fokwaarde voor residuele voeropname is hoger wanneer merkerinformatie toegevoegd wordt. De betrouwbaarheid van de fokwaarde als deze geschat is met alleen afstammingsgegevens is 14%. Met merkerinformatie stijgt de betrouwbaarheid naar 27%. De publicatie-eis om een fokwaarde te publiceren voor veehouders is dat de betrouwbaarheid minimaal 35% bedraagt (NRS, 2009). Dit geeft dus aan dat met de huidige dataset als referentiepopulatie de vereiste betrouwbaarheid nog niet bereikt kan worden.

#### 4.1.3 *Indicatieve merkers voor voerefficiëntie*

Als we de analyses verder verfijnen, blijkt dat één SNP statistisch significant aan te wijzen is als indicatief voor residuele voeropname (Figuur 4). Het is een SNP dat gelegen is op chromosoom 21, en er is een aanwijzing dat deze SNP geassocieerd is met een nabij gelegen gen dat mogelijk een effect heeft op energiebalans/ voerefficiëntie. Bij kippen is ditzelfde gen namelijk betrokken bij het energiemetabolisme (Li et al., 2009 en Xu et al., 2008).



**Figuur 4** De positie van de SNP's op chromosoom 21 (x-as) met een maat voor de significantie (de Bayes Factor 3.2) op de y-as. Een waarde boven de stippellijn duidt op een significant effect.

Deze ene SNP verklaart helaas slechts 0,2% van de genetische variatie in de residuele voeropname. Er zijn meerdere mogelijke verklaringen waarom dit getal niet groter is: (1) Ten eerste is de verklaarde variantie sterk afhankelijk van de hoeveelheid bewijs die de gegevens leveren dat een bepaalde SNP een groot effect heeft. Dit hangt dan weer direct af van het aantal gegevens (aantal koeien en aantal waarnemingen per koe) dat gebruikt is om de SNP-effecten te schatten. (2) Ten tweede hangt het af van de mate van erfelijkheid van de gebruikte gegevens. In dit onderzoek zijn SNP-effecten berekend op basis van metingen aan koeien, waarvan de erfelijkheid laag is in vergelijking met fokwaarden van stieren gebaseerd op waarnemingen van vele dochters. Wanneer beschikbaar, kan het schatten van de SNP-effecten op basis van fokwaarden van stieren, dus leiden tot meer bewijs in de data. Door deze twee beperkingen zullen alleen merkers gevonden kunnen worden in de huidige dataset als ze heel veel variantie verklaren. Zo is in de dataset wel heel duidelijk en nauwkeurig het effect van DGAT op vet% teruggevonden. Voerefficiëntie wordt waarschijnlijk door vele factoren bepaald, waardoor er niet slechts één SNP is die heel veel variantie verklaart.

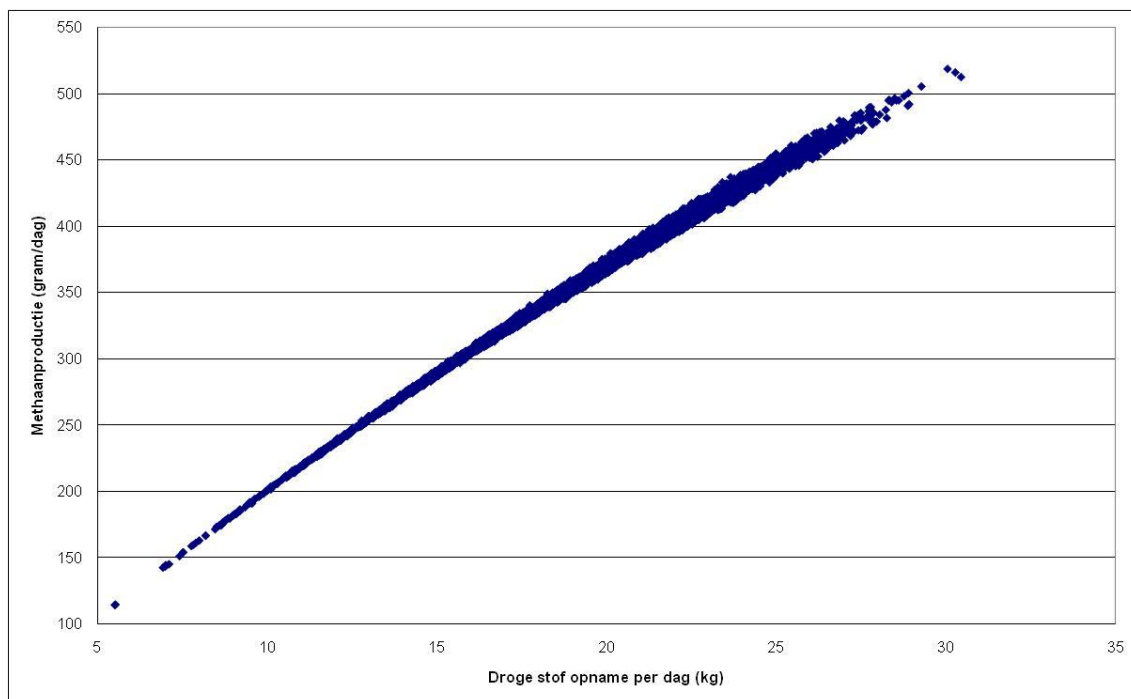
#### 4.1.4 *Mogelijkheden voor verbetering resultaten*

Indien we een grotere populatie met zowel werkelijk gemeten voerefficiëntie data als genotypische data tot onze beschikking hebben, zouden we deze link sterker kunnen krijgen. Hiervoor kan eventueel een samenwerking gezocht worden met andere projecten (binnen- of buitenlands), waar ook voeropnamegegevens geregistreerd zijn naast de melkproductie-gegevens en lichaamsgewicht. En waar bovendien genetisch materiaal (bloed, haar o.i.d.) van die koeien aanwezig is waaruit DNA geïsoleerd kan worden voor de bepaling van de merkers/SNP's.

## 4.2 Berekende methaanproductie

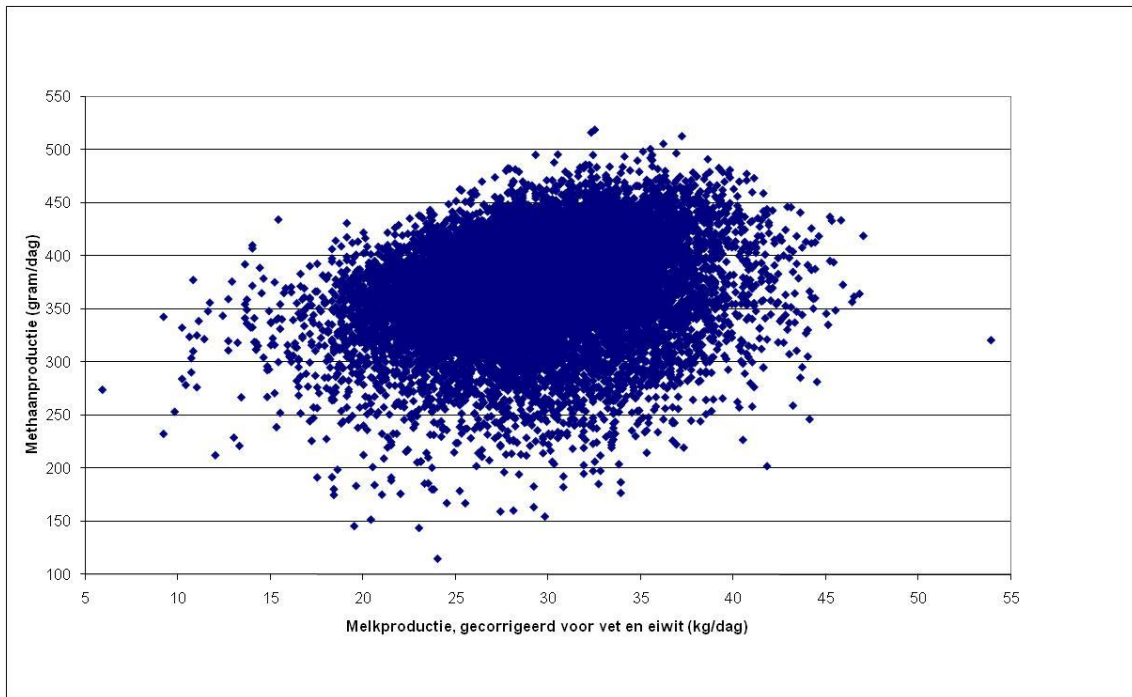
### 4.2.1 Droge stofopname

De berekende methaanproductie hangt, voortvloeiend uit de rekenregels, nauw samen met de droge stofopname per dag (ds, zie Figuur 5). De correlatie is dan ook zeer sterk tussen deze twee kenmerken (0,998). De twee berekende methaanmaten zijn onderling ook zeer sterk gecorreleerd met een correlatie van 0,996 (zie Tabel 2). Verderop zullen alleen resultaten voor de eerste rekenregel (IPCC) worden gegeven, aangezien alle grafieken, correlaties etc. met methaan volgens de tweede rekenregel vrijwel identiek zijn.



**Figuur 5** De methaanproductie (in gram per dag) per droge stof opname (in kg per dag)

De melkproductie is ook gerelateerd aan voeropname (zie Figuur 6), maar de correlatie is met 0,305 (zie Tabel 2) veel minder sterk dan die tussen methaanproductie en voeropname. Hierdoor is er ook een wolk aan punten, wat impliceert dat er een grote range is tussen de verschillende dieren op de verschillende testdagen.



**Figuur 6** De methaanproductie (in gram per dag) per melkproductie gecorrigeerd voor het vet- en eiwitgehalte (in kg per dag) voor iedere melkcontrole apart

#### 4.2.2 Fenotypische correlaties

Bij de fenotypische correlaties valt op dat berekende methaanproductie met alle melkproductiekenmerken positief gecorreleerd is (Tabel 2). Dit betekent dat wanneer de productie omhoog gaat, de berekende methaanproductie ook zal stijgen. Dit is hoogstwaarschijnlijk doordat de hoogproductieve dieren ook een hogere voeropname (ds) hebben, en de formule voor de berekende methaanproductie is afgeleid van de droge stofopname.

In tabel 2 is tevens te zien dat de berekende methaanproductie een positieve correlatie heeft met de residuele voeropname. Vanzelfsprekend is de correlatie tussen residuele voeropname en droge stofopname ongeveer even groot als die met methaan. Dit kan vertaald worden als dieren die een hoge residuele voeropname (lage voerefficiëntie) hebben, een hogere voeropname hebben en daarom een hogere berekende methaanproductie. Dit laat zien dat de voeropname en dus berekende methaanproductie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan. De correlatie is redelijk hoog, maar niet gelijk aan 1. Dit betekent dat residuele voeropname en berekende methaanproductie niet dezelfde kenmerken zijn.

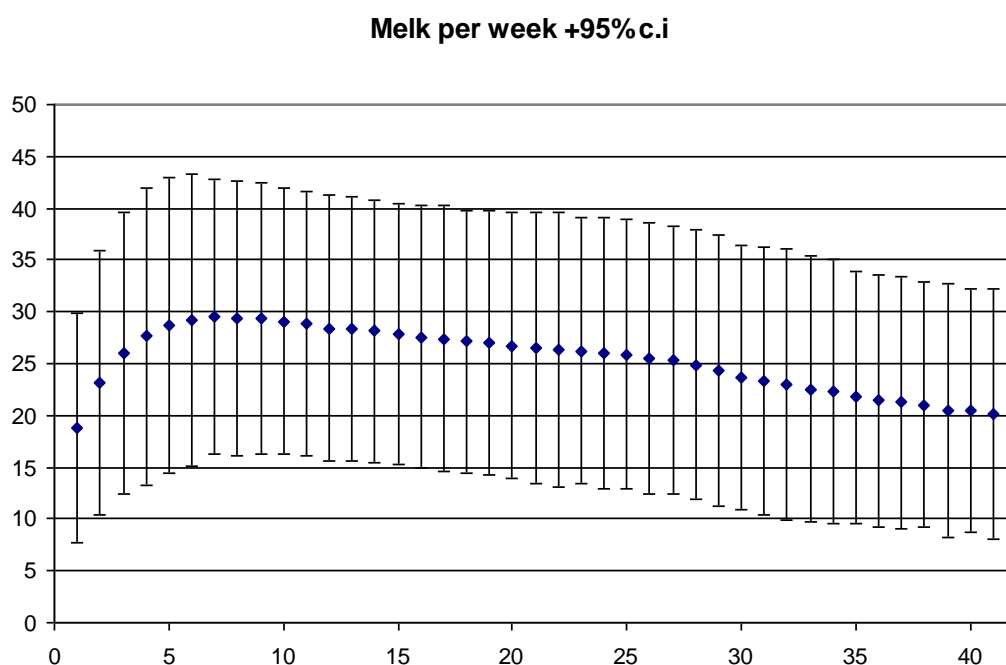
De negatieve fenotypische correlatie tussen meetmelk en residuele voeropname laat zien dat de hoogproductieve dieren een lagere residuele voeropname hebben, en dus efficiënter omgaan met hun voer (Tabel 2). De correlatie is echter redelijk laag, dus de associatie is niet één-op-één door te trekken.

**Tabel 2** De fenotypische correlaties tussen de methaanproductie (gram per dag), de melkproductiekenmerken (melk, vet, eiwit en meetmelk (alles in kg)) en de voeropname kenmerken (kg droge stofopname en berekende residuele voeropname (MJ/dag))

	Methaan per dag	Meetmelk	Melk	Vet	Eiwit	Opname ds
Meetmelk	0,263					
Melk	0,253	0,898				
Vet	0,154	0,902	0,634			
Eiwit	0,415	0,898	0,885	0,674		
Opname ds	0,998	0,305	0,310	0,178	0,447	
Residuele voeropname	0,721	-0,445	-0,362	-0,496	-0,234	0,718

#### 4.2.3 Effect van lactatiestadium

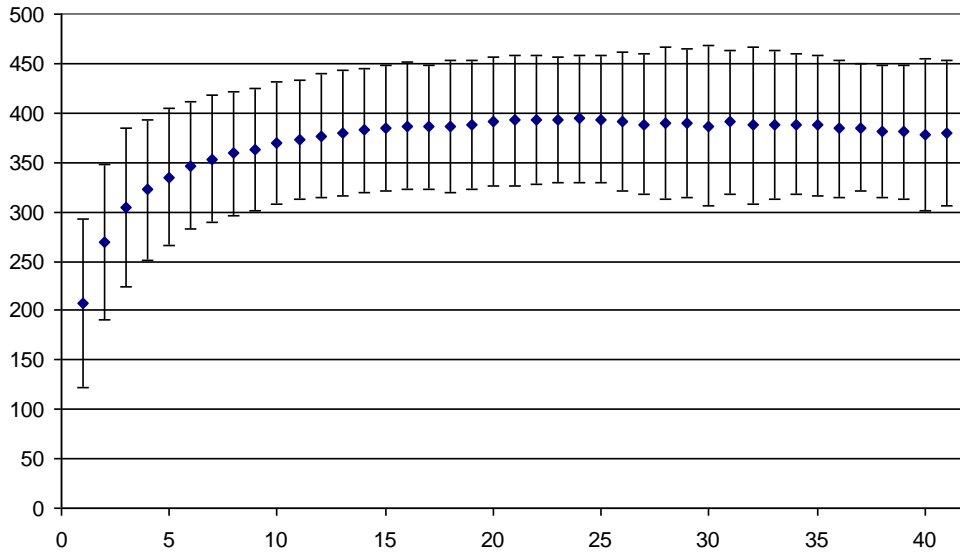
Alle kenmerken variëren over de lactatie heen. Vet en eiwit gecorrigeerde melk (meetmelk) volgt de klassieke lactatiecurve: snel oplopend in de eerste weken na afkalven en na een piek geleidelijk verminderend (zie Figuur 7).



**Figuur 7** De lactatiecurve voor de melkproductie gecorrigeerd voor het vet- en eiwitgehalte in de melk (in kg per dag) op de y-as uitgezet per lactatieweek (1 t/m 42) op de x-as

De berekende methaanproductie (in gram per dag) neemt toe in het begin van de lactatie tot ongeveer halverwege waarna het op een constant niveau van net onder de 400 gr/dag blijft (Figuur 8). Deze curve volgt de bekende voeropnamecapaciteit curve voor varzen, zoals die ook in het voeropnamemodel van Livestock Research van Wageningen UR zit: een geleidelijke toename in de eerste weken na afkalven, om vervolgens een plateau te bereiken tot aan het einde van de lactatie.

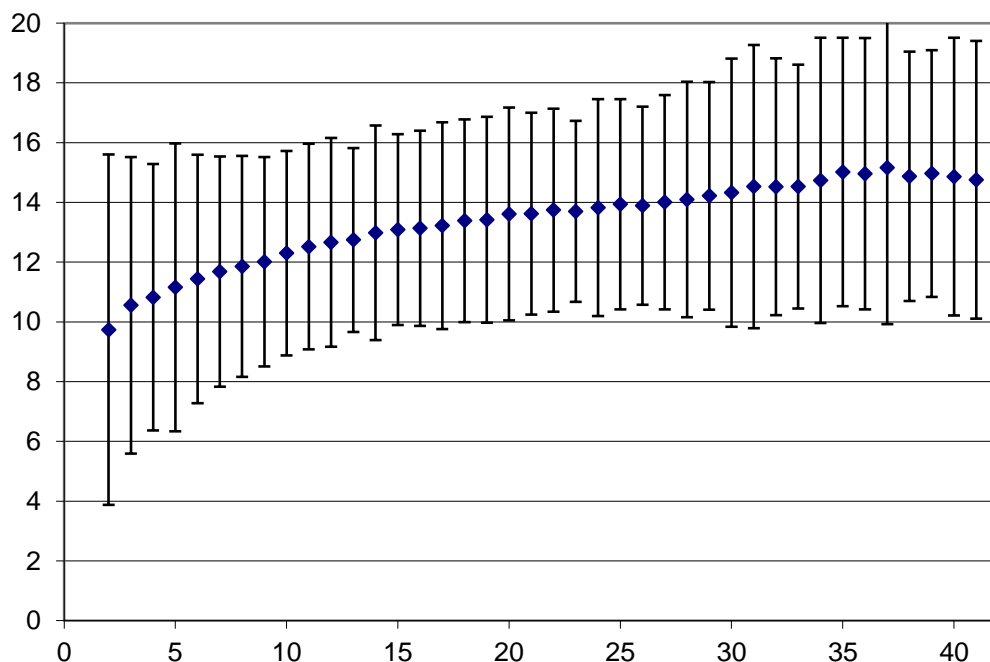
### Methaan1 per dag



**Figuur 8** De lactatiecurve van de berekende methaanproductie (in gram per dag) op de y-as uitgezet per lactatieweek (1 t/m 42) op de x-as

Het gevolg is dat de berekende methaanproductie gedurende de hele lactatie oploopt als methaan wordt uitgedrukt per kg meetmelk (Figuur 9). Gezien de gebruikte formule is dat een logisch gevolg. Zeker omdat er in het begin van de lactatie een negatieve energiebalans is, en na circa 6 weken een positieve energiebalans (De Vries en Veerkamp, 2000). Het gemobiliseerde lichaamswefsel (vooral vet) komt in de bloedbaan terecht en is beschikbaar voor onderhoud en productiedoeleinden, vanzelfsprekend zonder dat er methaan wordt gevormd uit deze gemobiliseerde lichaamsreserves. Omgekeerd, in latere lactatiestadia wordt een deel van de nutriënten, afkomstig van pensfermentatie, niet naar melk maar naar netto opbouw van lichaamswefsel gesluisd. Dan is de methaanproductie per eenheid geproduceerde melk juist hoog.

### Methaan1 per kg FPCM



**Figuur 9** De berekende methaanproductie per kg melk gecorrigeerd voor het vet- en eiwitgehalte (in gram per dag) op de y-as uitgezet per lactatieweek (1 t/m 42) op de x-as



#### 4.2.4 Fenotypische correlatie per lactatiestadium

Als de fenotypische correlatie tussen de berekende methaanproductie en meetmelk uitgesplitst wordt naar lactatiestadium, dan is te zien dat in het begin van de lactatie het verband vrij zwak is en in de tweede helft van de lactatie sterk (Tabel 3). Per kilo toename in meetmelk neemt de berekende methaanproductie ook meer toe aan het eind van de lactatie.

De gevonden helling geeft aan dat aan het eind van de lactatie (als de koe een positieve energiebalans heeft), de koe 5 gram extra methaan per dag produceert voor iedere liter meetmelk boven onderhoud. Eerder onderzoek heeft altijd als vuistregel aangegeven dat dit 10 gram zou zijn. De verklaring ligt erin, dat de dieren in de dataset vrij veel extra melk kunnen produceren tegen vrij weinig extra benodigd voer.

**Tabel 3** Correlatie (r) en regressie (helling en intercept) van methaan (g/d) op meetmelk (kg/d)

Lactatiestadium (in weken)	Aantal records	r	Helling	Intercept
1-5	3009	0,186	1,56	263
6-10	3155	0,308	2,21	290
11-15	3108	0,495	3,78	266
16-20	2933	0,558	4,34	260
21-25	2720	0,603	4,70	257
26-30	1918	0,566	5,04	248
31-42	2036	0,578	4,91	255

Uitgesplitst over lactatiestadium wordt de correlatie tussen de residuele voeropname en de berekende methaanproductie iets lager (Tabel 4), maar is nog steeds vrij sterk (ongeveer 0,60). De overall correlatie wordt dus gedeeltelijk veroorzaakt doordat aan het einde van de lactatieperiode meer methaan wordt geproduceerd bij een hogere residuele voeropname, maar ook binnen de lactatiestadia wordt meer methaan geproduceerd bij een hogere residuele voeropname.

**Tabel 4** Correlatie (r) en regressie (helling en intercept) van methaan (g/d) op de residuele voeropname (MJ/d)

Lactatiestadium (in weken)	r	Helling	Intercept
1-5	0,662	1,29	328
6-10	0,559	1,08	354
11-15	0,519	1,22	361
16-20	0,510	1,29	363
21-25	0,492	1,31	364
26-30	0,622	1,67	351
31-42	0,565	1,56	347

#### 4.2.5 Genetische parameters

Het genotype is in de biologie de verzameling eigenschappen van het individu die het heeft geërfd van beide ouders. Samen met de invloed van de omgeving (het milieu) bepaalt het genotype het fenotype van een individu: het totaal van alle waarneembare eigenschappen (kenmerken) van een organisme. Als we een fenotypische associatie leggen (correlatie berekenen), dan kijken we enkel naar de prestatie van een dier voor een kenmerk, zonder daarbij de invloed van de genetische aanleg en de omgeving uit elkaar te trekken. Als we genetische parameters schatten, dan destilleren we het aandeel van de genetische aanleg, door de gehele afstamming mee te nemen van de dieren. De genetische analyses zijn uitgevoerd, rekening houdend met de variatie over de lactatiestadia. Deze resultaten kunnen helpen bij het bepalen van het moment waarop voeropname (of in de toekomst methaanemissie) gemeten moet worden voor een effectieve selectie. De erfelijkheidsgraden en genetische correlaties zijn geschat met een random regressiemodel, dat rekening houdt met de grote verschillen tussen lactatiestadia.

*Erfelijkheidsgraad*

Voor alle kenmerken (berekende methaanproductie, meetmelk en residuele voeropname) is een lagere erfelijkheid gevonden in het midden van de lactatie, het duidelijkst voor methaan (Tabel 5). Dit betekent dat kenmerken aan het begin en einde van de lactatie sneller door selectie te veranderen zijn dan middenin de lactatie. De erfelijkheidsgraad is het laagst voor de berekende methaanproductie en het hoogst voor de methaanproductie uitgedrukt per kg meetmelk. De erfelijkheidsgraad van de berekende methaanproductie is 50% over de gehele lactatie heen, en varieert tussen 0,37 en 0,50, afhankelijk van het lactatiestadium. Dit is behoorlijk hoog en geeft aan dat het genetisch aandeel in de variatie tussen de dieren ook voor berekende methaanproductie dusdanig hoog dat er goed op te fokken is.

**Tabel 5** Erfelijkheidsgraden per lactatiestadium van 5 weken voor de berekende methaanproductie per dag (in gram), de melkproductie gecorrigeerd voor vet- en eiwitgehalte per dag (meetmelk, in kg), de residuele voeropname per dag (MJ/dag) en de berekende methaanproductie per kg meetmelk per dag (in gram)

Lactatiestadium (in weken)	Methaan per dag	Meetmelk	Residuele voeropname	Methaan / meetmelk
0-42	0,50	0,50	0,55	0,51
1-5	0,43	0,60	0,69	0,40
6-10	0,50	0,58	0,70	0,50
11-15	0,44	0,52	0,58	0,45
16-20	0,40	0,48	0,47	0,46
21-25	0,41	0,56	0,51	0,53
26-30	0,37	0,71	0,57	0,60

Het is goed te realiseren dat bij meetmelkproductie de gehalten erin verwerkt zijn. Gehalten in de melk hebben een hoge erfelijkheidsgraad, vandaar dat de erfelijkheidsgraad van meetmelk ook hoger is dan van de 'gewone' melkproductie (gemiddeld 30%). Het is ook bekend dat de erfelijkheidsgraad van voeropname erg hoog is (ongeveer 60%), en aangezien dat verwerkt zit in de rekenregel voor de methaanproductie, heeft dat ook invloed op de erfelijkheidsgraad van berekende methaanproductie per dag.

*Genetische correlaties*

De genetische correlatie tussen de berekende methaanproductie en de residuele voeropname is positief, dus dieren die een hogere residuele voeropname (lagere voerefficiëntie) hebben, hebben ook een hogere berekende methaanproductie (Tabel 6). Vooral in het begin van de lactatie is die correlatie hoog. De genetische correlatie tussen de berekende methaanproductie en meetmelk verandert met het lactatiestadia (tabel 6). In het begin van de lactatie is deze negatief: meer meetmelk geeft een lagere berekende methaanproductie, aan het eind positief: meer meetmelk geeft meer methaan. Dit komt wellicht voort uit de negatieve energiebalans van de koeien in het begin van de lactatie. Dan worden de lichaamsreserves aangesproken en die geven extra energie voor extra melk, zonder methaanvorming. Het omgekeerde vindt plaats aan het eind van de lactatie, waar netto lichaamsaanzet is. Door kans op ziekte is het voor de praktijk natuurlijk ongewenst dat dieren aan begin lactatie een sterke negatieve energiebalans hebben. Om methaanproductie per kg meetmelk te veranderen door selectie moet er in de praktijk rekening mee gehouden worden dat mobilisatie en aanzet van lichaamsreserves hierin een rol speelt, en dat deze relatie verandert over de lactatieperiode.

**Tabel 6** Genetische correlaties over lactatiestadium

Lactatieweek	Tussen methaan en residuele voeropname	Tussen methaan en meetmelk	Tussen residuele voeropname en meetmelk
1-5	0,811	-0,511	-0,905
6-10	0,774	-0,488	-0,916
11-15	0,654	-0,256	-0,867
16-20	0,461	0,207	-0,701
21-25	0,418	0,556	-0,406
26-30	0,508	0,660	-0,199

#### 4.2.6 *Merkerinformatie voor berekende methaanproductie*

De eerste resultaten van de SNP analyses laten geen duidelijke merkers (gensignalen) zien voor de berekende methaanproductie. De paar merkers die een piekje lieten zien, verklaren minder dan 1% van de totale genetische variatie. Dit impliceert dat er op basis van de huidige (referentie)populatie geen merker is gevonden voor methaanproductie berekend op basis van de droge stofopname. Ook de geschatte betrouwbaarheden voor een genomische fokwaarde voor berekende methaanproductie waren nog laag (14%). In vervolgonderzoek willen we graag eenzelfde analyse herhalen voor werkelijke methaanbepalingen aan koeien.

## 5 Hoe zijn de resultaten van dit onderzoek te interpreteren?

### 5.1 Wat is de toepassing van berekende methaanproductie?

In ons onderzoek zijn geen gegevens bekend van de werkelijke methaanemissie en hebben we ons moeten beperken tot de berekende methaanproductie op basis van de voeropname. Hiermee is de berekende methaanproductie dus volledig afhankelijk van voeropname en daarmee van de kwaliteit van voeropnamegegevens. Grofweg is berekende methaanproductie nagenoeg een lineaire functie van de droge stofopname, maar in werkelijkheid zal dit niet zo zijn, en al helemaal niet bij individuele dieren. De aanname is nu dat ieder individueel dier zich gedraagt volgens de standaard rekenregels (d.w.z. ieder dier vormt 6% methaan van het bruto energiegehalte van het voer – geen 5,8%, geen 6,2%, maar altijd exact 6%). Dit beperkt dus de toepassing van deze berekening voor individuele dieren, terwijl het juist die individuele diervariatie is die interessant is voor de fokkerij. Je wilt graag vertering/fermentatie, en dus methaanproductie koppelen aan die SNP informatie. Wat daarom absoluut noodzakelijk is voor implementatie is dat de methaanproductie daadwerkelijk aan dieren wordt gemeten. Dan kunnen die gegevens gekoppeld worden aan dieren met een hoge of lage voerefficiëntie om de associatie te bepalen.

### 5.2 Zijn er veranderingen in SNP's door de tijd en tussen rassen?

De data die in dit onderzoek zijn geanalyseerd, zijn verzameld in de jaren '90. Een belangrijke vraag bij de beschreven resultaten, is in hoeverre de geschatte SNP effecten op basis van een populatie van meer dan 10 jaar terug, een voorspellende waarde hebben in de huidige populatie? Uitgaande van een generatie-interval van 5 jaar, betekent dit dat de huidige populatie 2-3 generaties verwijderd is van deze referentiepopulatie. Doordat er aannames gemaakt moeten worden over wat er in die 2-3 generaties is overgeërfd, zal de nauwkeurigheid van fokwaarden voor dieren in de huidige populatie lager uitvallen dan berekend in de hier gebruikte dataset. Wanneer deze referentiepopulatie wordt uitgebreid, ontstaat de mogelijkheid om dieren toe te voegen die dichter bij de huidige populatie staan. Daardoor wordt de link met de huidige populatie verstevigd, en een eventueel effect op de nauwkeurigheid beperkt.

De beschreven resultaten zijn tevens alleen gebaseerd op Holstein koeien. Tegenwoordig is inkruisen echter erg populair en een terechte vraag is dan of er verschillen te verwachten zijn tussen rassen? Deze vraag kunnen we echter niet beantwoorden, omdat die gegevens niet beschikbaar zijn. In de nabije toekomst komen er wel gegevens beschikbaar van vleesvee. De verwachting is dat er over een jaar of 8 mogelijkheden liggen om de gegevens van vleesvee en melkvee te koppelen. Het voordeel is dat vleesvee minder "last" heeft van mobilisatie en aanzet van vet, zoals bij lacterende dieren. Door analyse van de gekoppelde data zouden gezamenlijk merkers gevonden kunnen worden.

### 5.3 Hoe groot moet de referentiepopulatie zijn voor betrouwbare schattingen?

Op basis van de betrouwbaarheid van de resultaten van de SNP analyse, en de berekende erfelijkheidsgraad voor energiebalans (0,325), hebben we voorspeld dat er 472 'effectieve' QTLs zijn. Op basis van dit aantal en de berekende erfelijkheidsgraad is de theoretische voorspelling dat de referentie populatie ten minste 2.582 dieren moet bevatten om een betrouwbaarheid van 35% voor fokwaarden voor energiebalans te behalen.

### 5.4 Wat is de correlatie tussen werkelijke en berekende methaanproductie?

De  $R^2$  tussen voorspelde en berekende methaanproductie is matig voor IPCC (Ellis et al., 2010). De rekenregel die rekening houdt met verschillen tussen maïs en gras gaf dezelfde resultaten. De matige correlatie wordt vooral veroorzaakt door de verschillende rantsoenen (Ellis et al., 2010) en niet zozeer door het niveau van voeropname. Omdat de rantsoenen relatief vergelijkbaar waren in de geanalyseerde dataset (alle gebaseerd op gedroogd gras, maïs en krachtvoeren geen 'gekke' toevoegingen als extra vet kenden) is de verwachting dat IPCC regel redelijk toereikend is. In Nederland gebruikt men voor de nationale emissieregistratie een Tier 3 model; een mechanistisch model (ontwikkeld door André Bannink en Jan Dijkstra) om methaan bij melkvee te schatten. Dit

model houdt nauwkeurig rekening met voereigenschappen. Echter van de voergegevens uit de proef op 't Gen kennen we vrijwel geen nadere details. Onbekend is o.a. het gehalte aan vet, zetmeel, NDF in het rantsoen. Daarom kan het Tier 3 model niet toegepast worden. Andere empirische rekenregels die net als IPCC Tier 2 (6% GE) weinig details nodig hebben, presteren niet beter (nauwkeuriger) dan IPCC Tier 2 (Ellis et al., 2010). Al deze modellen proberen variatie tussen dieren te modelleren, maar genetische variatie wordt uitgesloten. Het rantsoen van de dieren van 't Gen was natuurlijk extreem homogeen en constant vergeleken met de variatie van rantsoenen in de praktijk (over en binnen bedrijven). Vanuit fokkerij perspectief is de verwachting dat het de resultaten niet zou veranderen als er veel details bekend zijn. De onverklaarbare componenten zitten nu in de residuele variantie.

## 5.5 Wat zijn de economische en milieuaspecten van fokkerij?

De geschatte correlaties laten zien dat fokken op een verbeterde voerefficiëntie ook de berekende methaanproductie van de koeien beïnvloedt. Dieren die een hogere residuele voeropname hebben (een lage voerefficiëntie), produceren ook meer methaan. Deze associatie is echter niet 100%, waardoor de behaalde vooruitgang in het ene kenmerk niet 1-op-1 door te vertalen is naar een gelijke vooruitgang in het andere kenmerk. De correlaties zijn wel positief en zijn ongeveer 0,70 (zowel fenotypisch (tabel 2) als genetisch (tabel 6)). De fenotypische correlatie geeft aan dat dieren die een betere voerefficiëntie hebben (lage residuele voeropname) ook minder methaan produceren, en de hoogte van de genetische correlatie geeft aan dat dat ook onderbouwd wordt door de genetische aanleg van het dier.

We zijn ons ervan bewust dat de berekende methaanproductie een indicatie is van de werkelijke methaanemissie. Hoeveel methaan de koeien werkelijk uitstoten is alleen in respiratiekamers te meten en die gegevens zijn niet beschikbaar voor de koeien in de geanalyseerde dataset. De correlatie tussen berekende en werkelijke methaanemissie kan dan ook niet bepaald worden, maar we gaan er wel vanuit dat het een indicatie geeft en dat koeien met een hoge berekende methaanproductie ook een hoge werkelijke methaanemissie hebben.

Als aangenomen wordt dat de methaanemissie per melkkoe gemiddeld 129 kg is en dat er in 1.420.000 melkkoeien in Nederland rondlopen (data uit 2006), dan wordt er nu  $129 \times 21 \times 1420 = 3,85$  Mton methaan uitgestoten, omgerekend naar CO<sub>2</sub>-equivalenten. Door de resultaten uit deze studie te gebruiken in een fokprogramma om te fokken op een verbeterde voerefficiëntie en/of op een lagere berekende methaanproductie, kan de methaanproductie theoretisch jaarlijks met maximaal 2,6% verminderd worden. Deze vermindering is 0,100 Mton methaanemissie per jaar, omgerekend in CO<sub>2</sub>-equivalenten. Hierin is de mogelijke verminderde emissie uit de mestput, aangezien koeien met een betere voerefficiëntie naar verwachting ook minder mest produceren, nog niet verrekend. De verbeteringen zijn cumulatief, waardoor over 10 jaar een reductiepotentieel van 26% bewerkstelligd kan zijn (1 Mton). Bij de berekening van het jaarlijkse reductiepotentieel (2,6%) zijn we uitgegaan van eenzelfde selectiebeleid als momenteel voor melkproductie geldt in de Nederlandse melkveehouderij. Hierin zijn de geschatte genetische componenten meegenomen uit de huidige studie, maar hebben we aangenomen dat de intensiteit van selecteren (dus hoeveel stieren worden geselecteerd uit alle stiertjes die geboren worden) gelijk is aan die voor melkproductie. Zoals gezegd die de 2,6% per jaar het theoretisch maximaal haalbare. Dit geldt wanneer er volledig op dit kenmerk geselecteerd gaat worden, zonder dat er rekening gehouden wordt met andere kenmerken. In de praktijk zal dit echter niet gebeuren. Dan zal er geselecteerd worden op een totaalindex, waarin naast het verlagen van de methaanemissie, ook rekening gehouden zal worden met het op peil blijven van de melkproductie en het verbeteren van de gezondheid en vruchtbaarheid van de veestapel. Tevens zal de intensiteit van selecteren ook anders zijn, doordat de methaanemissie niet van alle koeien in Nederland bekend zal zijn in de praktijk. De betrouwbaarheid van de geschatte componenten in deze studie is nog redelijk laag (14%), omdat in een relatief kleine dataset de gegevens bekend waren. Als van meer dieren gegevens bekend worden, dan zal de betrouwbaarheid toenemen en daarmee ook het behaalde reductiepotentieel stijgen. De reden hiervan is dat bij een hogere betrouwbaarheid de goede dieren nog beter van de minder goede dieren onderscheiden kunnen worden. De kans dat op hele korte termijn van 5000 koeien de voeropname en rantsoensamenstelling (of de werkelijke methaanemissie) bekend is, is niet groot. Bij een betrouwbaarheid van 50% zal het jaarlijkse reductiepotentieel 5% zijn. Al met al biedt genetische selectie op een verminderde methaanemissie mogelijkheden voor de melkveehouderij, maar het is wel een traject van de lange adem.

Als de KI-bedrijven de fokwaarde van een stier voor voerefficiëntie op de stierenkaart zetten, zal het voor de veehouders het in prijs niet uitmaken of ze een stier selecteren die dochters vererfd die een goede of minder goede voerefficiëntie hebben. Noch zal het in prijs uitmaken of ze een stier kiezen waarvoor deze fokwaarde wel bekend is, of niet. Voor de KI-bedrijven zitten de kosten in de dataverzameling. Vandaar dat in 2011 een vervolgstudie is gestart om tot een goede methode te komen om een fokwaarde te schatten voor voerefficiëntie op basis van andere gerelateerde data die wel op grote, nationale schaal worden geregistreerd.

#### **5.6 Wat is de toepasbaarheid in de sector en zijn er niet-technische aandachtspunten?**

Voor de toepasbaarheid in de sector zijn er geen belemmeringen als er een methodiek opgezet is waarmee fokwaarden geschat kunnen worden die aan de publicatie-eis voldoen qua betrouwbaarheid (minimaal 35%). De betrouwbaarheid kan verhoogd worden door van meer dieren de benodigde data te hebben (voeropnamegegevens en DNA/genotypes), maar ook door een voorspeller te definiëren op basis van kenmerken die wel op grote schaal in Nederland worden geregistreerd, zoals melkproductie, conditiescore, exterieurkenmerken (om lichaamsgewicht uit af te leiden) e.d.. Als de fokwaarden betrouwbaar zijn, dan zijn er geen niet-technische aandachtspunten die een implementatie in de weg staan.

## 6 Wat is het toekomstperspectief van dit onderzoek?

### 6.1 Wat kan de praktijk ermee?

Dit onderzoek heeft aangetoond dat aan het begin van de lactatie de genetische correlatie tussen melkproductie per koe en residuele voeropname hoog is, maar naarmate de lactatie vordert wordt deze correlatie steeds minder sterk (na 15 weken (100 dagen) is die lager dan 0,7). Dit betekent dat fokken op hogere melkproductie niet per definitie ook de efficiëntie van de koe bij de voeromzetting verbetert. Om echt op efficiëntie (=economie) te fokken, is het verstandig om met een betere indicator te werken dan de melkproductie per koe. Dus écht op voerefficiëntie fokken is economisch veel aantrekkelijker dan op een hoge melkproductie per koe.

De merker die gevonden is in deze studie verklaart nog minder dan 1% van de genetische variatie in de residuele voeropname. Daardoor is het beter om een voorspelling te geven op basis van een combinatie van alle merkers (de zogenaamde 'prediction equation'), dan op basis van slechts deze ene merker. De huidige fokkerijpraktijk richt zich meer op calibratie van alle merkers dan op validatie van één merker. De voorspellende waarde van deze calibratie loopt wel terug met elke generatie. Daarom is het het beste om de prediction equation regelmatig op nieuwe gegevens bij te stellen. Gegevensverzameling blijft dus belangrijk. Op den duur zullen de echte verklarende merkers (gensignalen) boven komen drijven.

### 6.2 Wat is er nodig om pilot praktijkrijp te maken?

Uit de pilot is al gebleken dat selecteren op het hele scala aan merkers de betrouwbaarheid van fokken op voerefficiëntie verhoogt en dat er waarschijnlijk zelfs één merker is voor voerefficiëntie. Maar de geanalyseerde dataset van één proefbedrijf met daarin genotypische informatie en voerefficiëntie-gegevens is te klein om betrouwbare fokwaarden te kunnen schatten voor de nationale populatie. Om het vinden van meer geassocieerde (en sterker significante) SNP's mogelijk te maken, is een dataset met een groter aantal dieren met voeropnamegegevens en genetisch materiaal nodig. Een grotere dataset zal ook de betrouwbaarheid van de fokwaarden op een acceptabel niveau krijgen. In een vervolgtraject van 2 jaar dat 1 januari 2011 is gestart, worden twee mogelijkheden verder onderzocht om de betrouwbaarheid te verhogen:

1. Voerefficiëntiegegevens koppelen aan andere gerelateerde data die wel op grote, nationale schaal worden geregistreerd.
2. Samenwerking zoeken met andere landen of projecten, zodat de dataset met voerefficiëntiegegevens en genotypische informatie vergroot wordt.

Het doel van dit vervolgproject, dat voornamelijk gefinancierd wordt door PZ, is om een methode voor fokwaardeschatting te ontwikkelen en nationale fokwaarden te schatten voor voerefficiëntie. Zodra de methodiek functioneert voor voerefficiëntie, zullen deze fokwaarden vertaald worden naar fokwaarden voor berekende methaanproductie en stikstofefficiëntie. Hierdoor kan de ecologische footprint van het Nederlandse melkvee verkleind worden middels genomica. Mogelijkheden om werkelijke methaانبepalingen op grote schaal te gaan registreren/verzamelen worden momenteel ook bekeken.

Het streefbeeld is dat met de resultaten van deze studie de benutting van het genoemde genetische potentieel via verder uit te voeren vervolgstappen kan worden gerealiseerd. Dit leidt uiteindelijk tot vermindering van de methaanuitstoot uit de veehouderij.

## 7 Conclusies en aanbevelingen

### Conclusies

Voerefficiëntie is erfelijk bepaald. De geschatte erfelijkheidsgraad van de residuele voeropname is 0,33, dus 33% van de variatie tussen dieren wordt verklaard door hun genetische aanleg.

In het verleden was het erg lastig om via de fokkerij voerefficiëntie te verbeteren. Met de genomica-technieken is dit wel goed mogelijk. Ontdekte merkers in een referentiepopulatie zullen geldig zijn voor de gehele nationale populatie. Zodat (op termijn) een fokwaarde voor voerefficiëntie te schatten is.

Uit de analyses kwam één merker naar voren die statistisch significant blijkt te zijn voor residuele voeropname. Er is ook een aanwijzing dat deze merker geassocieerd is met een nabij gelegen gen dat mogelijk een effect heeft op de energiebalans/voerefficiëntie. Bij kippen is dit verband aangetoond.

Met merkerinformatie (gensignalen) kan betrouwbaarder geselecteerd worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van alleen de traditionele afstammingsgegevens. Met merkerinformatie is de betrouwbaarheid tweemaal zo groot. De betrouwbaarheid van deze schatting was met 27% echter nog steeds lager dan de publicatie-eis van 35%.

De methaanproductie in dit onderzoek is niet bepaald via metingen, maar berekend. De correlatie met droge stofopname hierbij is hoog. De analyse met de berekende methaanproductie laat zien dat de methaanemissie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan.

De erfelijkheidsgraad van de (berekende) methaanproductie is 50%. Dit betekent dat selecteren op een lage (berekende) methaanproductie goed mogelijk is.

De correlatie tussen de berekende methaanproductie en de residuele voeropname is ongeveer 0,7, dus door te fokken op efficiënte dieren verlaag je ook de methaanproductie. De methaanproductie en melkproductie zijn negatief gecorreleerd aan het begin van de lactatie, maar lager dan 0,6. Dit betekent dat fokken op een hogere melkgift niet de methaanemissie gelijktijdig 1-op-1 vermindert.

### Aanbevelingen

Op basis van de huidige (referentie)populatie is er geen merker gevonden voor de methaanproductie die berekend is op basis van de droge stofopname. In vervolgonderzoek willen we graag eenzelfde analyse herhalen voor werkelijke methaanbepalingen aan koeien. Maar gegevens van dieren met werkelijke methaanemissies zijn nog schaars.

Uit dit onderzoek blijkt dat er veel mogelijkheden zijn om te fokken op een betere voerefficiëntie en een verlaagde milieubelasting van de Nederlandse melkkoeien. Maar de resultaten zijn nog niet betrouwbaar genoeg om direct in de praktijk te implementeren. Door nu daadwerkelijk inhoudelijk onderzoek te verrichten naar voerefficiëntie en methaanemissie heeft WUR ook aansluiting met buitenlands onderzoek. Daarom zijn er goede mogelijkheden om de analyse uit te breiden met meer data, zodat het resultaat betrouwbaarder wordt en mogelijk wel in de praktijk te implementeren is.



## 8 Referenties

- Bannink, A. et al. (2008). Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall. *Animal Feed Science and Technology* 143, 3-26
- De Haan, M. et al. (2008). Perspectief voor genomica in de melkveehouderij. PZ Rapport, Maart 2008.
- De Vries, M.J. and R.F. Veerkamp (2000). Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *JDS*83: 62-69
- Hegarty, R.S. et al. (2007). Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *Journal of Animal Science* 85(6): 1479-1486.
- Koenen, E.P.C. and A.F. Groen (1998). Genetic evaluation of body weight of lactating Holstein heifer using body measurements and conformation traits. *Journal of Dairy Science* 81: 1709-1713.
- Li, L.P. et al. (2009). The nuclear orphan receptor COUP-TFII plays an essential role in adipogenesis, glucose homeostasis, and energy metabolism. *Cell Metab.* 9:77-87
- NRS (2009). Publicatieregels stierindexen. Hoofdstuk E-26 van Handboek NRS. <https://www.nvofokwaarden.nl/nl/fokwaarden/pdf/E26.pdf>
- Snelling, W.M. et al. (2007). A physical map of the bovine genome. International Bovine BAC Mapping Consortium. *Genome Biol.* 8(8):R165.
- Xu, Q. et al. (2004). Chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II (COUP-TFII) and hepatocyte nuclear factor 4 gamma (HNF-4 gamma) and HNF-4 alpha regulate the bovine growth hormone receptor 1A promoter through a common DNA element. *J. Mol. Endocrinol.* 32:947-961

### 8.1 Publicaties uit dit project

- Verbyla, K.; Calus, M.P.L.; Mulder, H.A.; De Haas, Y.; Veerkamp, R.F. (2010). Predicting energy balance for dairy cows using high-density single nucleotide polymorphsim information. *Journal of Dairy Science* 93 (6). - p. 2757 - 2764.
- Windig, J.J., De Haas, Y., Bannink, A., Dijkstra, J., De Haan, M., Veerkamp, R.F., Calus, M.P.L. (2011). Genetic parameters for predicted methane production based on dry matter intake and diet composition. To be submitted to *Journal of Dairy Science*.
- Verbyla, K., Veerkamp, R.F., Calus, M.P.L., Mulder, H.A., De Haas, Y. (2010). Explaining variation in energy balance using high density SNP information. Presentation BSAS - Belfast, Ireland. 12-14 April 2010
- Verbyla, K.; Haas, Y. de; Calus, M.P.L.; Mulder, H.A.; Veerkamp, R.F. (2010). Explaining Genetic Variation in energy balance using high density SNP information. In: Proceedings of the 9th World Congress on Genetic Applied to Livestock Production (WCGALP), Leipzig, Germany, 1-6 August 2010.
- Yvette de Haas, Klara Vebyla, Mario Calus, Han Mulder, Michel de Haan, André Bannink, Jan Dijkstra, Roel Veerkamp (2011). Fokken op voerefficiëntie is mogelijk. *Veeteelt* januari 1/2, 2011: 1.
- Florus Pellikaan (2010). Genomics geen magie. *Veehouders* dringen aan op mogelijkheid om te fokken op voerefficiëntie. *Veeteelt* oktober 2, 2010: 27.
- [www.gensignalen.nl](http://www.gensignalen.nl) - Deze website biedt informatie over de onderzoeksprojecten, de resultaten en de initiatieven die er lopen om met behulp van gensignalen te komen tot een meer 'probleemloze koe'. Op deze website is ook informatie verstrekt over dit onderzoek.

## 9 Verkorte samenvatting/Short summary

### Nederlandse samenvatting

Het doel van dit pilotproject was (1) om te achterhalen of genetische merkers beschikbaar zijn voor residuele voeropname of voerefficiëntie en (2) om de associatie te bepalen tussen residuele voeropname en de berekende methaanproductie. In dit onderzoek is gebruik gemaakt van gegevens van het, inmiddels gesloten, proefbedrijf 't Gen van Wageningen UR Livestock Research. Van 588 dieren zijn DNA-gegevens en voeropnamegegevens beschikbaar. Uit de analyses kwam één merker die statistisch significant is voor residuele voeropname. Er is aangetoond dat met de merkers betrouwbaarder geselecteerd kan worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van de traditionele afstammingsgegevens. Met merkerinformatie is de betrouwbaarheid tweemaal zo groot, dan met alleen afstammingsgegevens (27 en 14%, respectievelijk). De analyse met de berekende methaanproductie laat zien dat de methaanproductie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan. De fenotypische en genetische correlatie tussen residuele voeropname en berekende methaanproductie zijn beide ongeveer 0,70. Ook de correlatie tussen de berekende methaanproductie en melkproductie is negatief in het begin van de lactatie, maar lager dan 0,6. Dit betekent dat fokken op een hogere melkgift niet de methaanemissie gelijktijdig één-op-één zal verminderen. Door te fokken op een verbeterde voerefficiëntie is jaarlijks een reductiepotentieel te behalen van 0,10 Mton (2,6% van de huidige nationale methaanemissie omgerekend naar CO<sub>2</sub>-equivalenten). De genetische verbeteringen zijn cumulatief, waardoor in 10 jaar tijd een reductie van 26% te behalen is. Dit is een vermindering in de methaanemissie die bereikt kan worden zonder extra kosten voor de veehouders. Zodra de fokwaarden voldoende betrouwbaar geschat kunnen worden en ze op de stierenkaart verschijnen, kan een veehouder er kosteloos voor kiezen.

**Trefwoorden:** Fokkerij, Fokwaarden, Genomic Selection, Voerefficiëntie, Methaanemissie, Melkvee, Gensignalen

### English abstract

The aim of this study was (1) to find genetic markers for feed efficiency or residual feed intake, and (2) to determine the association between residual feed intake and predicted methane emission, based on dry matter intake and diet composition. Data was used from former experimental farm 't Gen of Wageningen UR Livestock Research. Genotypes and feed intake record were available from 588 cows. One marker was found to be significantly associated with residual feed intake. Results have shown that genetic selection based on marker information was more accurate than based on purely the traditional pedigree information. A reliability of 27 and 14% was achieved, respectively. The analyses with the predicted methane emission have shown that it is possible to decrease the methane emission by selecting efficient cows. Both the phenotypic and genetic correlation between residual feed intake and predicted methane emission was estimated to be approximately 0,70. Also a negative correlation between predicted methane emission and milk production was estimated in early lactation. However, this correlation is below 0,60, indicating that selection on higher milk yield will not identically decrease the methane emission. By breeding for improved feed efficiency, a yearly reduction potential of 0,10 Mton can be achieved. This is 2,6% of the current national methane emission, expressed in CO<sub>2</sub>-equivalents. Genetic improvements are cumulative, and therefore, in 10 years a reduction of 26% can be achieved. This reduction can be achieved without extra costs for the dairy farmers as soon as the breeding values are accurate enough to publish.

**Key words:** Breeding, Breeding values, Genomic Selection, Feed efficiency, Methane emission, Dairy cattle

## 10 Uitgebreide samenvatting voor AgentschapNL

### Aanleiding

Dieren met een hoge residuele voeropname bij een bepaalde melkproductie gaan niet efficiënt met hun voer om. Door de hoge voeropname komt er meer voer in de pens dat daar gefermenteerd moet worden. Hierbij komt dan meer methaangas vrij dan bij koeien die een kleinere hoeveelheid voer opnemen. Als je die dieren kunt selecteren met een hogere voerefficiëntie, selecteer je direct voor dieren met een lagere methaanemissie. Indirect kan de lachgasreductie ook verbeterd worden doordat dieren met een hoge voerefficiëntie minder mest produceren, waardoor er minder stikstof uit de mestput zal verdwijnen.

Een kwantitatieve studie in Australië met 76 ossen heeft inderdaad aangetoond dat er minder methaan wordt uitgestoten door dieren die genetisch al enkele generaties geselecteerd zijn op een lage residuele voeropname dan door dieren die genetisch geselecteerd zijn op een hoge residuele voeropname (Hegarty et al., 2007). Het is echter lastig om via de fokkerij voerefficiëntie te verbeteren, omdat het meten van voeropname op veehouderijbedrijven erg onpraktisch en duur is. Sinds eind 2006 is het echter mogelijk om genetische variatie tussen dieren te meten op DNA-niveau voor 54.001 SNP-merkers tegelijkertijd. Met deze merkers kan de genetische variatie in voeropname en voerefficiëntie in kaart gebracht worden, en op basis daarvan kunnen de fokwaarden voor koeien en stieren geschat worden. Bij deze genomische selectie wordt geselecteerd op basis van zogenoemde SNP-merkers verspreid over het hele DNA. Dit biedt perspectief voor een fokwaarde voor voerefficiëntie, zonder veel dure metingen.

### Doelstelling

Het doel van dit pilotproject is om aan te tonen hoe met genomics kennis de praktische melkveehouderij vooruitgang kan boeken. Dit onderzoek brengt in kaart hoe via genomische selectie de voerefficiëntie van melkvee te verbeteren is, en wat hiervan de mogelijke gevolgen voor methaanemissie zijn. Het specifieke doel was (1) om te achterhalen of genetische merkers beschikbaar zijn voor residuele voeropname of voerefficiëntie en (2) om de associatie te bepalen tussen de residuele voeropname en de methaanproductie berekend op basis van de droge stofopname en de rantsoensamenstelling.

### Data en kenmerken

In de jaren '90 zijn van bijna 700 vaarzen gegevens verzameld op het voormalig proefbedrijf 't Gen (Lelystad). Deze vaarzen zijn geboren tussen 1990 en 1997 en stammen af van in totaal 98 verschillende stieren, waarbij 1 stier 36 nakomelingen had, maar de meeste stieren 5 tot 10. Alle dieren werden in één stal gehuisvest onder dezelfde (milieu)omstandigheden. Gedurende de eerste 300 dagen (42 weken) van de lactatie zijn gegevens van de dieren nauwkeurig geregistreerd. De vaarzen zijn in de eerste 100 dagen van de lactatie niet geïnsemineerd. De geregistreerde gegevens die belangrijk zijn voor deze studie zijn (1) melkproductie, met vet-, eiwit- en lactose-gehalte (wekelijks gemeten op een vaste dag), (2) lichaamsgewicht (wekelijks gemeten op een vaste dag) en (3) voeropname (op alle werkdagen gemeten). Ook de rantsoensamenstelling werd geregistreerd voor ieder dier en de koeien werden ad lib gevoerd.

In die jaren zijn ook bloedmonsters genomen van de dieren en opgeslagen in een vriezer. In 2009 kon uit 588 bloedmonsters goed DNA geëxtraheerd worden dat vervolgens gegenotypeerd is door ServiceXS (Leiden, Nederland).

De residuele voeropname (MJ/dag) is gedefinieerd als het verschil in energieopname via het voer en de energiebehoefte voor de melkproductie (kg melk, vet en eiwit) en voor onderhoud als functie van het lichaamsgewicht. De residuele voeropname is een maat voor voerefficiëntie, waarbij koeien die efficiënt omgaan met hun voer een lage residuele voeropname hebben.

Om de methaanproductie te berekenen zijn twee rekenregels toegepast. De eerste rekenregel is de zogenoemde IPCC-regel, waarbij de methaanproductie overeenkomt met 6% van de bruto energie opname. Bij de tweede rekenmethode om de methaanproductie te berekenen wordt er rekening mee gehouden dat de methaanproductie varieert per voedermiddel. Voor methaanproductie van maïs is 16,8 g/kg ds aangehouden, en voor van gras/graskuil is dat 21,0 g/kg ds en voor krachtvoer (incl. soja etc.) 21,0 g/kg ds.

### **Voerefficiëntie**

Om te kunnen fokken op een kenmerk moet er allereerst variatie zijn tussen dieren. Alleen dan kan onderscheid gemaakt worden tussen de goede en minder goede dieren. Ten tweede moet een deel van die variatie tussen dieren verklaard worden door de genetische aanleg van de dieren. Het deel van de variatie dat genetisch is, wordt uitgedrukt in een erfelijkheidsgraad.

De geschatte erfelijkheidsgraad van voerefficiëntie (residuele voeropname) is 0,325. Dat betekent dat ruim dertig procent van de variatie tussen dieren verklaard kan worden door de genetische aanleg van de dieren. Melkproductie heeft een vergelijkbare erfelijkheidsgraad, en de afgelopen decennia hebben duidelijk aangetoond dat melkgift een kenmerk is waarop veel genetische vooruitgang te boeken is.

Uit de analyses kwam één merker die statistisch significant lijkt te zijn voor residuele voeropname. Er is ook een aanwijzing dat deze merker geassocieerd is met een nabij gelegen gen dat mogelijk een effect heeft op de energiebalans/voerefficiëntie. Bij kippen is ditzelfde gen namelijk betrokken bij het energiemetabolisme.

Er is aangetoond dat met de merkers betrouwbaarder geselecteerd kan worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van de traditionele afstammingsgegevens. Met merkerinformatie is de betrouwbaarheid tweemaal zo groot. De betrouwbaarheid van deze schatting was met 27% nog steeds lager dan de publicatie-eis van 35%. Dit betekent dat de huidige dataset als referentiepopulatie te klein is. Een grotere populatie met zowel werkelijke (voeropname)data als genotypische data is nodig voor een betrouwbaardere schatting.

### **Berekende methaanproductie**

De fenotypische analyse met de berekende methaanproductie laat zien dat de methaanproductie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan. De geschatte fenotypische correlatie tussen de residuele voeropname en de berekende methaanproductie is 0,72. Dit geeft aan dat koeien die een hogere residuele voeropname hebben (dus lage voerefficiëntie) ook meer methaan produceren. De associatie is dus niet 100%, waardoor de behaalde vooruitgang in het ene kenmerk niet 1-op-1 door te vertalen is naar een gelijke vooruitgang in het andere kenmerk.

Uit de genetische analyses blijkt dat goed te fokken is op methaanproductie, want de geschatte erfelijkheidsgraad is 50%. De correlatie tussen de berekende methaanproductie en melkproductie was negatief, maar lager dan 0,6. Dit betekent dat fokken op een hogere melkgift niet de methaanproductie gelijktijdig één-op-één zal verminderen. Evenals de fenotypische correlatie is de genetische correlatie tussen de residuele voeropname en de berekende methaanemissie 0,70. Dat geeft aan dat associatie die gezien wordt bij koeien, ook onderbouwd wordt door de genetische aanleg van het dier.

De eerste resultaten van de SNP analyses laten geen duidelijke merkers (gensignalen) zien voor de berekende methaanproductie. De paar merkers die een piekje lieten zien, verklaren minder dan 1% van de totale genetische variatie. Dit impliceert dat er op basis van de huidige (referentie)populatie geen merker is gevonden voor methaanproductie berekend op basis van de droge stofopname.

### **Milieuaspecten, economische aspecten, niet-technische aspecten**

De geschatte correlaties laten zien dat fokken op een verbeterde voerefficiëntie ook de berekende methaanproductie van de koeien beïnvloedt. Dieren die een hogere residuele voeropname hebben (een lage voerefficiëntie), produceren ook meer methaan. We zijn ons ervan bewust dat de berekende methaanproductie een indicatie is van de werkelijke methaanemissie. Hoeveel methaan de koeien werkelijk uitstoten is alleen in respiratiekamers te meten en die gegevens zijn niet beschikbaar voor de koeien in de geanalyseerde dataset. De correlatie tussen berekende en werkelijke methaanemissie kan dan ook niet bepaald worden, maar we gaan er wel vanuit dat het een indicatie geeft en dat koeien met een hoge berekende methaanproductie ook een hoge werkelijke methaanemissie hebben.

Als aangenomen wordt dat de methaanemissie per melkkoe gemiddeld 129 kg is en dat er in 1.420.000 melkkoeien in Nederland rondlopen (data uit 2006), dan wordt er nu  $129 * 21 * 1420 = 3,85$  Mton methaan uitgestoten, omgerekend naar CO<sub>2</sub>-equivalenten. Door te fokken op een verbeterde voerefficiëntie en/of op een lagere berekende methaanproductie kan de methaanproductie met 2,6% verminderd worden, dan is de vermindering van 0,10 Mton methaanemissie omgerekend naar CO<sub>2</sub>-equivalenten. De genetische verbeteringen zijn cumulatief, waardoor in 10 jaar tijd een reductie van 26% te behalen is.



Wageningen UR Livestock Research

Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad T 0320 238238 F 0320 238050

E [info.livestockresearch@wur.nl](mailto:info.livestockresearch@wur.nl) | [www.livestockresearch.wur.nl](http://www.livestockresearch.wur.nl)

Als de KI-bedrijven de fokwaarde van een stier voor voerefficiëntie op de stierenkaart zetten, zal het voor de veehouders het in prijs niet uitmaken of ze een stier selecteren die dochters vererft die een goede of minder goede voerefficiëntie hebben. Noch zal het in prijs uitmaken of ze een stier kiezen waarvoor deze fokwaarde wel bekend is, of niet. Zodra er een methodiek opgezet is waarmee fokwaarden geschat kunnen worden die aan de publicatie-eis voldoen qua betrouwbaarheid (minimaal 35%), zijn er voor de toepasbaarheid in de sector geen belemmeringen. De betrouwbaarheid kan verhoogd worden door van meer dieren de benodigde data te hebben (voeropnamegegevens en DNA/genotypes), maar ook door een voerspeller te definiëren op basis van kenmerken die wel op grote schaal in Nederland worden geregistreerd, zoals melkproductie, conditiescore, exterieurkenmerken (om lichaamsgewicht uit af te leiden) e.d.. Als de fokwaarden betrouwbaar zijn, dan is er geen enkel aandachtspunt (zoals wet- en regelgeving, kennisbescherming etc.) dat een implementatie in de weg staat.

## Conclusies

Uit het onderzoek zijn de volgende conclusies getrokken:

- Voerefficiëntie is erfelijk bepaald. Dat was al bekend, maar is via de actuele genomicatechnieken en historische gegevens van proefbedrijf 't Gen betrouwbaarder in beeld gebracht.
- In het verleden was het erg lastig om via de fokkerij voerefficiëntie te verbeteren. Met de genomicatechnieken is dit wel goed mogelijk. Ontdekte merkers in een referentiepopulatie zullen geldig zijn voor de gehele nationale populatie. Zodat (op termijn) een fokwaarde voor voerefficiëntie te schatten is.
- Uit de analyses kwam één merker naar voren die statistisch significant blijkt te zijn voor residuele voeropname. Er is ook een aanwijzing dat deze merker geassocieerd is met een nabij gelegen gen dat mogelijk een effect heeft op de energiebalans/voerefficiëntie. Bij kippen is dit verband aangetoond.
- Met merkerinformatie (gensignalen) kan betrouwbaarder geselecteerd worden op een betere voerefficiëntie dan op basis van alleen de traditionele afstammingsgegevens. Met merkerinformatie is de betrouwbaarheid tweemaal zo groot. De betrouwbaarheid van deze schatting was met 27% echter nog steeds lager dan de publicatie-eis van 35%.
- De methaanproductie in dit onderzoek is niet bepaald via metingen, maar berekend. De correlatie met droge stofopname hierbij is hoog. De analyse met de berekende methaanproductie laat zien dat de methaanemissie te verlagen is door koeien te selecteren die efficiënt met hun voer omgaan.
- De geschatte erfelijkheidsgraad van de residuele voeropname is 0,33 en die van de (berekende) methaanproductie is 0,50. Dit betekent dat selecteren op een lage (berekende) methaanproductie goed mogelijk is.
- De correlatie tussen de berekende methaanproductie en de residuele voeropname is ongeveer 0,7, dus door te fokken op efficiënte dieren verlaag je ook de methaanproductie.
- De correlatie tussen de berekende methaanproductie en melkproductie is in het begin van de lactatie negatief, maar lager dan 0,6. Dit betekent dat fokken op een hogere melkgift niet de methaanemissie gelijktijdig 1-op-1 zal verminderen.

## Aanbevelingen voor vervolg

Op basis van de huidige (referentie)populatie is er geen merker gevonden voor de methaanproductie, berekend op basis van de droge stofopname. In vervolgonderzoek willen we graag eenzelfde analyse herhalen voor werkelijke methaanbepalingen aan koeien. Maar gegevens van dieren met werkelijke methaanemissies zijn schaars.

Uit dit onderzoek blijkt dat er veel mogelijkheden zijn om te fokken op een betere voerefficiëntie en een verlaagde milieubelasting van de Nederlandse melkkoeien. De resultaten zijn echter nog niet betrouwbaar genoeg om direct in de praktijk te implementeren. Door nu inhoudelijk onderzoek te verrichten naar voerefficiëntie en methaanemissie heeft WUR ook aansluiting met buitenlands onderzoek. Daarom zijn er goede mogelijkheden om de analyse uit te breiden met meer data, zodat het resultaat betrouwbaarder wordt en mogelijk wel in de praktijk te implementeren is.