



De invloed van voedings-, omgevings- en dierfactoren op het microbioom van herkauwers

Aanknopingspunten om de enterische methaanemissie van melkkoeien te verminderen via beïnvloeding van het microbioom

R.L.G. Zom en L.B. Šebek

OPENBAAR
RAPPORT 1297



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

De invloed van voedings-, omgevings- en dierfactoren op het microbioom van herkauwers

Aanknopingspunten om de enterische methaanemissie van melkkoeien te verminderen via beïnvloeding van het microbioom

R.L.G. Zom en L.B. Šebek , Wageningen Livestock Research

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research, in opdracht van en gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek thema 'Mest, milieu en klimaat' (projectnummer BO-43-012.02-010)

Wageningen Livestock Research
Wageningen, februari 2021

Rapport 1297

R.L.G. Zom en L.B. Šebek, 2021. *De invloed van voedings-, omgevings- en dierfactoren op het microbiom van herkauwers; aanknopingspunten om de enterische methaanemissie van melkkoeien te verminderen via beïnvloeding van het microbiom*. Openbaar Wageningen Livestock Research Rapport 1297.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/542784> of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).



Dit werk valt onder een Creative Commons Naamsvermelding-Niet Commercieel 4.0 Internationaal-licentie.

© Wageningen Livestock Research, onderdeel van Stichting Wageningen Research, 2021

De gebruiker mag het werk kopiëren, verspreiden en doorgeven en afgeleide werken maken. Materiaal van derden waarvan in het werk gebruik is gemaakt en waarop intellectuele eigendomsrechten berusten, mogen niet zonder voorafgaande toestemming van derden gebruikt worden. De gebruiker dient bij het werk de door de maker of de licentiegever aangegeven naam te vermelden, maar niet zodanig dat de indruk gewekt wordt dat zij daarmee instemmen met het werk van de gebruiker of het gebruik van het werk. De gebruiker mag het werk niet voor commerciële doeleinden gebruiken.

Wageningen 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 Livestock Research is NEN-EN-ISO 9001:2015 gecertificeerd.

Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponneerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Openbaar Wageningen Livestock Research Rapport 1297

Inhoud

Inhoud	4
Samenvatting	5
1 Inleiding	7
2 Definiëren en karakteriseren	8
2.1 Definiëring van het microbioom	8
2.2 Karakterisering van het microbioom	8
2.2.1 Samenstelling, taxonomie en functionaliteit	8
2.2.2 Onderling vergelijken van microbioomstudies	9
3 Microbioom, mircobiota en omgevingsfactoren	10
3.1 Effecten van voeding en rantsoen op het microbioom	10
3.2 Sturing van het microbioom bij het volwassen dier	11
4 Microbioom en dierfactoren	13
4.1 Individueel diereffect op het microbioom	13
4.2 Impact van bemonsteringsprotocol voor pensmicrobioom	13
4.3 Erfelijkheid van het microbioom	13
4.4 Erfelijkheid van CH ₄ emissie	14
5 Manipulatie van het microbioom	16
5.1.1 Introductie van nieuw genetisch materiaal	16
5.1.2 Interventies bij het jonge dier: Early Life Programming	16
6 Conclusies	18
Referenties	20

Samenvatting

Het doel van deze literatuurstudie is na te gaan welke wijze en in welk levensstadia het microbioom succesvol kan worden beïnvloed om de enterische methaan emissie te verminderen. Daarvoor is nodig dat de definities helder zijn, soms worden de begrippen microbioom en microbiële populatie, ook in wetenschappelijk publicaties, door elkaar gebruikt. Het microbioom van de pens is de verzameling microbiële genomen die in de pens van een individu voorkomen. Onder de microbiota van de pens wordt verstaan de verzameling van populaties van verschillende microben in de pens.

De samenstelling en functionaliteit van het microbioom wordt gekarakteriseerd door middel van "Next Generation Sequencing" (NGS) technieken. De ontwikkelingen met NGS gaan zeer snel.

Interpretatie en vergelijking van de kwantitatieve gegevens over het voorkomen van diverse microbiële taxa, is alleen goed mogelijk tussen individuele dieren en rantsoenen binnen één studie of onderzoek, of tussen studies waarbij identieke methoden en technieken zijn gebruikt voor het isoleren en analyseren van DNA.

Er bestaat een grote consistentie in de samenstelling van het kern microbioom over een groot regionaal gebied en soorten herkauwers. Verschillen in de microbiële populaties kunnen vooral worden toegeschreven aan het rantsoen, en dus het management en in mindere mate aan de gastheer.

Ingrepen in het rantsoen en het gebruik van additieven is het meest effectief om de microbenpopulatie te manipuleren op korte termijn. Ingrepen in het rantsoen kunnen gericht zijn op het voerniveau, verteerbaarheid, ruwvoer-krachtvoer verhouding, en de aanwezigheid van specifieke stoffen (bijv. saponinen, tannines).

De microbiële populatie is deels individueel bepaald. De mechanismen hier achter zijn nog onopgehelderd. Wellicht spelen microben aan het pens-epitheel hier in een rol en kan er sprake zijn van een invloed van het immuunsysteem.

Het microbioom is mogelijk deels erfelijk bepaald. Wellicht is dit gerelateerd aan de morfologie van de pens. Ook komen ouder en jong uit hetzelfde milieu, mogelijk speelt de overdracht van micro-organismen in het vroege leven een rol bij de waargenomen "erfelijkheid". Verschillen in enterische CH₄ productie tussen dieren kan deels worden verklaard uit de morfologie van het dier. Een kleinere pens en een hogere passagesnelheid resulteert in een lagere CH₄ emissie. Verschillen in CH₄ emissie tussen dieren lijken consistent te zijn gedurende de lactatie.

De microbiële populatie is zeer robuust en veerkrachtig, daarom zijn interventies bij volwassen dieren zeer moeilijk.

Manipulatie van het microbioom is nog een grotendeels onontgonnen gebied. Introductie van nieuw genetisch materiaal in het microbioom zou een oplossingsrichting kunnen zijn. Echter, het ontbreekt aan kennis om dit te bewerkstelligen.

Interventies bij het jonge dier (d.w.z. direct na de geboorte, alvorens vast voer wordt opgenomen) lijken het meest kansrijk om het microbioom gedurende langere tijd of het gehele leven te beïnvloeden. Kolonisatie van de pens treed al heel snel op, waarschijnlijk al tijdens de geboorte. In deze fase lijkt het dier ook het meest gevoelig voor interventies. Echter, de mechanismen en het optimale tijdstip zijn nog onduidelijk en behoeven onderzoek. De huidige studies met interventies in het jonge leven beperken zich tot dusverre tot kleine herkauwers. Ook moet de persistentie van de effecten nog verder worden onderzocht, bij voorkeur bij grote herkauwers.

1 Inleiding

De veehouderij wordt verantwoordelijk gehouden voor 13,3% (CBS Statline, november 2019, <https://opendata.cbs.nl/statline/#/CBS/nl/dataset/83300ned/table?dl=2B7DD>) van de totale uitstoot van broeikasgassen (in CO₂ equivalenten) door menselijke activiteit in Nederland. Van de broeikasgasuitstoot uit de veehouderij is het overgrote deel (ca. 90%) het gevolg van uitstoot van methaan (CH₄) uit het maagdarmsstelsel van dieren, de zogenaamde enterische methaanemissie. De enterische methaanemissie is vooral afkomstig van uitgeademde methaan (CH₄) die ontstaat bij de anaerobe fermentatie van celwanden in de voormagen (pens, netmaag) van herkauwers. In mindere mate wordt methaan geproduceerd bij anaerobe fermentatie in de dikke darm bij zowel herkauwers als éénmagigen.

Bij het verminderen van de methaanuitstoot wordt vooral aandacht gericht op het terugdringen van de CH₄ emissie per hoeveelheid geproduceerd dierlijk product. Bijvoorbeeld de hoeveelheid methaan per kg melk of vlees. Verhogen van de dierlijke productie, bijvoorbeeld een hogere melkproductie per koe, is het meest efficiënt en resulteert in de grootste afname van de CH₄ emissie per kg dierlijk product (Dijkstra et al., 2013). De drogestof opname verklaart voor een zeer groot deel de variatie in de enterische methaanemissie (Knapp, 2019). Dit is onder meer gerelateerd aan de omvang van het maagdarmkanaal (voeropnamecapaciteit), afbraaksnelheid en de passagesnelheid van het voer. Verder spelen de rantsoen- en nutriëntensamenstelling een rol bij de aard en de hoeveelheid substraat die beschikbaar komt voor de pensmicroben en dientengevolge ook de samenstelling van de microbenpopulaties en daarmee de enterische methaanproductie. Onder gelijke omstandigheden (rantsoenen, voeropname) kunnen individuele dieren significant verschillen in de methaanemissie (kg CH₄/kg DS). Een sluitende verklaring voor deze tussen-diervariatie ontbreekt nog, maar het is mogelijk een gevolg van de dier-specifieke verschillen in het microbioom in de pens. Deze dier-specifieke verschillen van het microbioom zijn mogelijk erfelijk bepaald, of worden mogelijk beïnvloed door voedings- en omgevingsfactoren in het vroege leven van het dier.

Het hier beschreven literatuuronderzoek richtte zich op de vraag of en hoe de ontwikkeling van het microbioom in de pens van herkauwers wordt gestuurd door individuele dierspecifieke factoren (dierfactoren) en omgevingsfactoren, inclusief mogelijke interacties tussen dier- en omgevingsfactoren.

Voor de dierfactoren wordt ingegaan op welke kennis er bestaat met betrekking tot het koppelen van dierfactoren aan een bepaald type microbioom (c.q. welke dierfactoren een bepaald type microbioom stimuleren). Het gaat om kenmerken zoals passage, fermentatieprofiel, zuurgraad, mate van vertering, voer- en drinkwater opname, herkauwen e.d.

Om deze vragen te beantwoorden wordt in hoofdstuk 2 beschreven wat onder het microbioom wordt verstaan en op welke wijze het microbioom gekarakteriseerd moet worden met betrekking tot de methaanemissie. In hoofdstuk 3 wordt beschreven welke kennis in de literatuur beschikbaar is met betrekking tot de rol van omgevingsfactoren op de ontwikkeling van een bepaald type microbioom. Vervolgens wordt in hoofdstuk 4 ingegaan op de vraag of bepaalde dierfactoren gekoppeld zijn aan bepaalde omgevingsfactoren, en in hoofdstuk 5 of het mogelijk is de ontwikkeling van het microbioom te sturen. Ten slotte wordt het literatuuronderzoek in hoofdstuk 6 afgesloten met conclusies.

2 Definiëren en karakteriseren

2.1 Definiëring van het microbioom

De termen microben, microbiota en microbioom worden in de wetenschappelijke literatuur vaak door elkaar gebruikt en dat leidt tot verwarring (Huws et al., 2018):

- De microben zijn één- en meercellige organismen die in een bepaalde omgeving (bijvoorbeeld de pens) voorkomen.
- De microbiota zijn de verzameling van populaties van verschillende microben die in een bepaalde omgeving (bijvoorbeeld de pens) voorkomen.
- Het microbioom is de verzameling microbiële genomen die in een bepaalde omgeving (bijvoorbeeld de pens) van de gastheer voorkomen.

Het microbioom van een individu kan slaan op de totale verzameling microbiële genomen aanwezig op en in het dier, maar er kan ook onderscheid worden gemaakt tussen de verzameling microbiële genomen aanwezig op verschillen de delen van het individu, bijvoorbeeld het microbioom van de huid of het maagdarmkanaal, of meer specifiek de pens. Uit moleculaire studies blijkt dat er een kernmicrobiom is dat bestaat uit verschillende taxonomische groepen (Weimer, 2015) en gedomineerd wordt door de bacteriestammen firmicutes (gram positief, endosporevormend) en bacteroidetes (gram negatief, non-sporevormend).

De microbiële populatie in de pens van herkauwers is zeer divers. Er zijn duizenden verschillende soorten bacteriën en archae (prokaryoten), fungi en protozoa (eukaryoten).

Bij herkauwers bestaat de microbiële populatie uit prokaryoten (bacteriën en archaea) en eukaryoten (fungi en protozoa). De microbiële massa wordt gevormd door (in volgorde van afnemend aantal organismen per ml) bacteriën met ca. 10^{10} tot 10^{11} organismen per ml, archaea met ca. 10^8 tot 10^9 organismen per ml, protozoen met ca. 10^5 tot 10^6 organismen per ml en fungi met ca. 10^3 tot 10^4 organismen per ml. Daarnaast komt in de pens het grotendeels nog niet gekarakteriseerde viroom voor (Newbold and Ramos-Morales, 2020). Het viroom is de verzameling nucleïne zuren, zowel RNA- en DNA bacteriofagen, die de gezamenlijke virale populatie vormen in een bepaalde omgeving. De rol van het viroom bij de pensfermentatie is nog onopgehelderd.

2.2 Karakterisering van het microbiom

2.2.1 Samenstelling, taxonomie en functionaliteit

Vanouds worden pensbacteriën geïdentificeerd door middel van bacteriekweekmethoden. Protozoa worden onderscheiden op basis van microscopisch onderzoek. De fungi zijn veel moeilijker te identificeren omdat ze verschillende verschijningsvormen hebben in verschillende levensstadia (bijv. zoösporen en vegetatief). Tegenwoordig kan het microbiom wat betreft samenstelling, taxonomie en functionaliteit worden gekarakteriseerd door middel van "Next Generation Sequencing" (NGS) technieken. Deze technieken zijn een krachtiger instrument om de aanwezige en actieve microbiële populaties vast te stellen dan de conventionele kweektechnieken en microscopische methoden (Pitta et al., 2018). Er is een veelheid aan materialen en technieken voor NGS beschikbaar en in ontwikkeling, die eigen specifieke eigenschappen hebben wat betreft capaciteit, gebruiksgemak, kosten, nauwkeurigheid, en read structure (Pitta et al., 2018).

Next Generation Sequencing kan worden toegepast voor taxonomie en karakterisering van pensbacteriën (prokaryoten) op basis van sequensing van het 16S ribosomaal RNA gen met NGS. Echter, voor taxonomie en identificatie van archaea, protozoën en fungi zijn de mogelijkheden voor taxonomie van karakterisering nog beperkt (Pitta et al., 2018). Recent, is sequensing van eukaryotisch 18S ribosomaal RNA gen toegepast om protozoa (ciliaten) in de pens te karakteriseren (Newbold et al., 2015). Er moet worden opgemerkt dat de technologische ontwikkelingen op het gebied van NGS extreem snel gaan en recente ontwikkelingen geven aan dat er vorderingen worden gemaakt op het gebied van de taxonomie en identificatie van archaea, protozoa, fungi en het viroom (Newbold and Ramos-Morales, 2020).

Behalve onderzoek naar welke micro-organismen aanwezig zijn in de pens is het ook van belang te kijken naar de functionaliteit van de micro-organismen.

Omics technieken kunnen inzicht geven in het metabolisme van de microbiële populatie in de pens door via snelle sequensing van DNA en RNA genexpressies en transcripten te onderzoeken. Voorbeelden daarvan zijn genomics (de sequenties, functies en organisatie van het genoom van een organisme), metabolomics (metabolieten in organismen), proteomics (de sequenties, functies en organisatie van eiwitten in een cel of organisme), transcriptomics (messenger RNA's van een organisme).

2.2.2 Onderling vergelijken van microbiomstudies

De gebruikte onderzoeksmethoden zijn van grote invloed op de resultaten van bepaling van de aanwezige taxa en hun relatieve aandeel in de microbenpopulatie en functionaliteit. Weimer (2015) geeft in zijn review aan dat er tussen studies grote verschillen bestaan in opbrengst, kwaliteit, frequentie en distributie van DNA van de verschillende taxa. Deze verschillen kunnen voor een deel worden toegeschreven aan verschil in de gebruikte materialen en methoden in de studies. Factoren gerelateerd aan de omstandigheden tijdens de studie zijn: dierfactoren (diersoort, ras, leeftijd, pensontwikkeling), rantsoensamenstelling, voerniveau, de fractie waarin de analyse is uitgevoerd (vloeistof, deeltjesfase, filtraat, neerslag en centrifugaat, etc.), monsternametijdstip ten opzichte van voertijdstip en individuele dierverschillen. Factoren gerelateerd aan de gebruikte methoden zijn: methode van bemonstering in de pens (slokdarmsonde, penscanule), plaats van bemonstering in de pens (dorsale, ventrale, craniale deel van de pens, penswand).

De voornaamste conclusie is dat voorzichtigheid is geboden bij interpretatie en vergelijking van de kwantitatieve gegevens over het voorkomen van diverse microbiële taxa, alleen goed zijn mogelijk tussen individuele dieren en rantsoenen binnen één studie of onderzoek, of alleen tussen studies waarbij identieke methoden zijn gebruikt voor het isoleren en analyseren van DNA (Henderson et al., 2013, Weimer, 2015)

3 Microbioom, mircobiota en omgevingsfactoren

3.1 Effecten van voeding en rantsoen op het microbioom

Een uitgebreid vergelijkend onderzoek in 742 monsters van 32 diersoorten (herkauwers en kameelachtigen) in 35 landen leidde tot de conclusie dat er een gemeenschappelijk kern-microbenpopulatie bestaat. Ongeveer 30 van de meest voorkomende taxa bacteriën en archaea waren dominant in 90% van de monsters (Henderson et al., 2015). De samenstelling en aanwezigheid van de protozoa populaties waren meer variabel. Deze hoge mate van consistentie c.q. de beperkte variatie in de samenstelling van de microbiële populatie over een geografisch groot gebied, geeft aan dat evolutionaire druk heeft geresulteerd in selectie van gemeenschappelijke componenten binnen de groep pensmicroben (Henderson et al., 2015). Het onderzoek van Henderson et al. (2015) geeft tevens aan dat verschillen in de microbiële populaties vooral kunnen worden toegeschreven aan het rantsoen en in mindere mate aan de gastheer.

Er zijn veel studies gedaan naar het effect van interventies in het rantsoen en/of voeding op de samenstelling van de microbenpopulatie in de pens. Echter, het is van belang op te merken dat bij onderzoek naar de relatie tussen rantsoeninterventies en de samenstelling van de microbenpopulatie, het gehele microbioom in ogenschouw moet worden genomen en niet alleen de verzameling bacteriële genomen (het z.g. bacterionoom). Ook moet er rekening worden gehouden met interacties tussen veranderingen in de samenstelling van het microbioom en veranderingen in de pensfermentatie en het metabolisme van het dier (Newbold and Ramos-Morales, 2020).

Interventies kunnen worden onderverdeeld in de samenstelling van voeders (voederwaarde, voerkwaliteit, verteerbaarheid), de rantsoensamenstelling (verhoudingen tussen verschillende voeders in het rantsoen), voeders met specifieke eigenschappen (polyfenoloxidase, tannines, saponines), onverzadigde vetten en additieven (3NOP, essentiële oliën) (Huws et al., 2018).

Vergroten van de het aandeel snel afbreekbare koolhydraten ten koste van structurele koolhydraten (NDF, celwanden) resulteert in een verschuiving van de samenstelling van het microbioom en het aandeel methanoge pensmicroben. Een meta-analyse van Gastelen et al. (2019) geeft aan dat verbetering van de voerkwaliteit (verhogen van de organische stof verteerbaarheid en RE van graskuil en verlagen van het NDF gehalte in graskuil en snijmais) alsmede vervangen van graskuil door snijmais resulteert in een verlaagde methaanproductie. Vergroten van het aandeel krachtvoer resulteert in geringere diversiteit van de microbiële populatie en een geringer aandeel van fibrolytische microben (Fernando et al., 2010). Krachtvoerrijke rantsoenen hebben effect op de populatie methanogenen in de pens via het redox potentiaal (Friedman et al., 2017). Van een aantal saponinen, onder andere voorkomen in luzerne, is negatief effect op protozoa vastgesteld, waardoor ze kunnen bijdragen aan het reduceren van de CH₄ productie in die pens. Meervoudig onverzadigde vetten zijn remmen de groei sommige cellulolytische bacteriën en protozoa die H⁺ leveren aan methanogene archaea.

In de onderstaande figuur afkomstig van Newbold and Ramos-Morales (2020), geeft een schematisch overzicht van de effecten van additieven op verschillende microbieele doelgroepen.

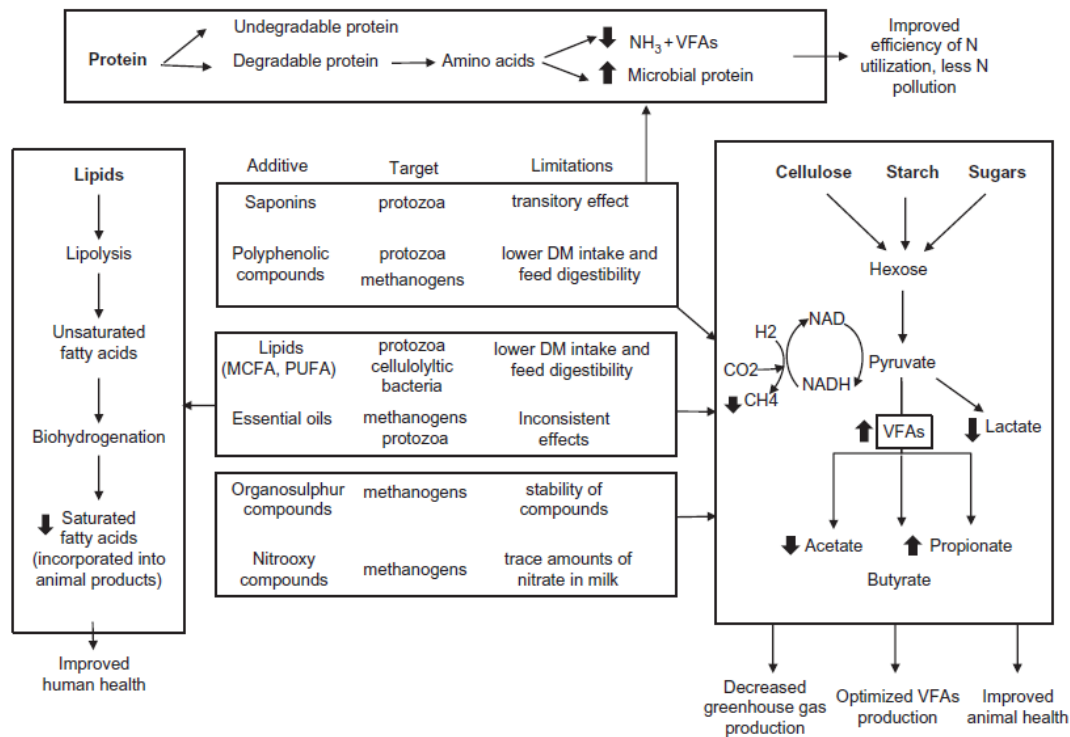


Figure 1 Potential effects of dietary additives on the rumen microbiome and fermentation and limitations of their use in animal feeding. MCFA=medium chain fatty acids; PUFA=polyunsaturated fatty acids; VFA=volatile fatty acids.

Echter, ten aanzien van rantsoensamenstelling, voer kwaliteit en voeding zijn de mogelijkheden om de samenstelling van de microbiële populatie te beïnvloeden niet onuitputtelijk. Onderzoekresultaten geven aan dat de interventies in de rantsoensamenstelling voornamelijk resulteren in een tijdelijk effect (Weimer, 2015, Yanez-Ruiz et al., 2015, Goopy, 2019, Newbold and Ramos-Morales, 2020). Ook kunnen er ongewenste neveneffecten optreden bij voerinterventies. Verhogen van de voederwaarde of de energiedichtheid van het rantsoen kan leiden tot overvoeding (vervetting) bij laag productieve dieren. Beperking van de voeropname, kan een mogelijkheid zijn tot beperken van de energieopname. Echter, beperkt voeren kan weer leiden tot verminderd dierwelzijn. Ook de mogelijkheden tot het gebruik van alternatieve ruwvoerders en voedermiddelen met specifieke eigenschappen die invloed hebben op de pensfermentatie kunnen in de praktijk beperkt zijn door agronomische factoren zoals opbrengst, oogstzekerheid en vruchtwisseling. Daarnaast, kunnen deze stoffen ook andere ongewenste afwentelingen hebben. Bijvoorbeeld, van tanninen is bekend dat ze een negatief effect hebben op de smakelijkheid en opname (Subnel, 1997). Ook het gebruik van additieven met betrekking tot manipulatie van de microbiële populatie als maatregel voor reductie van de enterische CH₄ emissie geeft een wisselend beeld. De remmende werking van ionoforen op protozoa is in de literatuur uitvoerig beschreven. Echter, deze zijn binnen de EU niet toegestaan. Een veelbelovende additief is 3-NOP (3-nitro-oxypropanol), deze stof remt methyl-coenzym M reductase in archaea waardoor de methaanvorming wordt geremd (Huws et al., 2018, Newbold and Ramos-Morales, 2020). Voor het creëren van lange termijn effecten op de enterische methaanemissie zijn daarom wellicht andere strategieën nodig dan rantsoen- en voerinterventies. Sturing van het microbiom lijkt daarvoor een mogelijkheid.

3.2 Sturing van het microbiom bij het volwassen dier

Het microbiom van een volwassen rund is robuust waardoor het moeilijk te manipuleren is. Het microbiom wordt gekenmerkt door een grote mate van redundantie. Hiermee wordt bedoeld dat er in de microbiële populatie een grote mate aan functionele overlap tussen meerdere taxa bestaat. Er zijn bijvoorbeeld bijv. meerdere soorten celwandafbrekende microben. Ondanks dat een rantsoen complex kan zijn wat betreft de samenstelling, zijn er maar een relatief beperkt aantal verschillende substraten die beschikbaar komen in de pens, terwijl het aantal microbiële soorten enorm is (Weimer, 2015). O'Callaghan et al. (2018) hebben een studie uitgevoerd waarin stalvoeding met een Totally Mixed Ration (TMR) systeem, weidegang op gras (*Lolium perenne*), en weidegang gras-klover (*Lolium perenne*, *Trifolium repens*) met elkaar werden vergeleken. De behandelingen resulteerden niet in

veranderingen in het microbioom, maar gaven wel een duidelijke verschuiving in het metabooloom van de pens en de melk. Er werd geconstateerd dat de microbiële populatie niet alleen zeer complex, maar ook zeer stabiel is. Op basis van deze studie werd geconcludeerd dat over een korte termijn een rantsoenverandering geen effect heeft op de structuur het microbioom, maar wel op de functionaliteit van het microbioom, hetgeen is af te lezen aan het metabooloom in de pens en de melk (O'Callaghan et al., 2018).

Het ecosysteem van de pens is in staat te reageren op verstoringen van buitenaf. Dit kan worden beschreven in termen van stabiliteit en veerkracht. Een ecosysteem is stabiel als het moeilijk uit balans worden gebracht en is veerkrachtig als het zich bij verstoring van het evenwicht snel herstelt. Herstel van de balans in het ecosysteem is niet per se een terugkeer naar de situatie van voor de verstoring. Het kan ook betekenen dat er een nieuw evenwicht ontstaat. Deze eigenschappen zorgen ervoor dat de pensfunctie robuust is en in tact blijft onder een brede range van rantsoenen en variëteit aan voedingssituaties. In een studie waarin pensverzuring werd geïnduceerd, werden snel verschuivingen gezien in de samenstelling van de microbiële populatie (toename van microben die lactaat kunnen omzetten), maar binnen 5 dagen na het induceren van pensverzuring was de microbenpopulatie weer terug in de uitgangssituatie (Petri et al., 2013). Het nadeel van de robuustheid van de pensfunctie is dat het moeilijk is om de pensfunctie te manipuleren en aan te passen (bijv. minder methaanuitstoot) (Weimer, 2015).

4 Microbioom en dierfactoren

4.1 Individueel diereffect op het microbioom

Vanuit humane studies is naar voren gekomen dat het microbioom in het maagdarmkanaal bestaat uit een kern-microbioom met daarnaast een groot aantal microbiële taxa die specifiek zijn voor de gastheer (Weimer, 2015). Het kern-microbioom komt in alle individuen voor. Henderson et al. (2015) verklaart de sterke overlap in de samenstelling van de microben populaties in de pens van verschillende individuen uit overeenkomsten in de voeding. Voeding en rantsoen zijn volgens (Henderson et al., 2015) de belangrijkste factoren die de samenstelling van de microbiële populatie bepalen. Echter, tussen individuen op hetzelfde of een vergelijkbaar rantsoen kunnen zich ook verschillen in de samenstelling van microbiële populatie voordoen (Henderson et al., 2015). Dit suggereert dat de samenstelling van het microbioom deels ook individueel bepaald is en wellicht overerfelijk is.

De relatief beperkte en kortdurende impact van verandering in rantsoensamenstelling, van vervanging van de pens-inhoud en van voedingsstrategieën op de microbiële populatie bij volwassen dieren heeft geleid tot een toenemende belangstelling in de interacties tussen de gastheer (het individu) en de samenstelling en functionaliteit van de microbiële populatie. (Malmuthuge and Guan, 2017). Uit diverse studies blijkt, dat na uitwisseling van de pens-inhoud tussen twee dieren, de samenstelling van de microbiële populatie en de pH snel (binnen enkele dagen) terugkeert naar de situatie van voor de uitwisseling (Weimer, 2015, Weimer et al., 2017, Zhou et al., 2018). Bij uitwisseling van de pensinhoud tussen individuele dieren met een hoge en een lage melkproductie-efficiëntie was de pH en vluchtige vetzuurproductie binnen 1 dag, en de samenstelling van de microbenpopulatie binnen 10 dagen teruggekeerd naar de uitgangssituatie (Weimer et al., 2017).

4.2 Impact van bemonsteringsprotocol voor pensmicrobioom

De impact van voeding, genetica en additieven en andere interventies is doorgaans onderzocht bij de microbiële populaties die verbonden zijn aan de vaste en vloeistoffase van de pens-inhoud. Echter ook de microbiële populatie die aan het pens-epitheel is gehecht is sterk van de gastheer afhankelijk (Malmuthuge and Guan, 2017). Deze microbiële-populatie verkeert fysiek dichterbij de nabijheid van gastheer, mogelijk is daardoor de invloed van de gastheer op deze populatie groter dan op de microbenpopulatie die verbonden is aan de vaste en vloeistoffase van de pens-inhoud (Malmuthuge and Guan, 2017). Het pens-epitheel speelt een belangrijke rol bij de nutriëntenopname en immuunrespons. De microbiële populatie die aan het pens-epitheel is gehecht speelt mogelijk ook een belangrijke rol bij een snel herstel van de microbiële populatie in experimenten met volledige uitwisseling van de pens-inhoud (Zhou et al., 2018). Een mogelijk reden hiervoor is dat het praktisch onmogelijk is om alle microben van de penswand te verwijderen. Deze microben kunnen na een interventie (bijv. uitwisselen pens-inhoud) de pens snel opnieuw koloniseren (Zhou et al., 2018). Er is sprake van een selectie van de microbiële populatie onder invloed van genetica van de gastheer en/of fysiologische condities (Bickhart and Weimer, 2018).

De gastheerspecificiteit kan mogelijk mede worden verklaard door de secretie van het immunoglobuline A (SIgA) met het speeksel (Fouhse et al., 2017). Dit immunoglobuline dat in grote hoeveelheden wordt uitgescheiden kan hechten (coating) aan zowel commensale (microben in het maagdarmkanaal) als pathogene microben en speelt een rol bij de herkenning door het immuunsysteem van de gastheer en dit mechanisme speelt mogelijk een rol bij gastheerspecificiteit (Fouhse et al., 2017). Fouhse et al. (2017) toonde aan dat er een selectiviteit bestaat in de coating met speeksel SIgA van commensale bacteriën en dat dit gastheer specifieke effect invloed heeft op de kolonisatie van de pens met commensale bacteriën..

4.3 Erfelijkheid van het microbioom

Roehe et al. (2016) vonden dat groepen afstammelingen van vleesvee-fokstieren konden worden gerangschikt op basis van het relatieve aandeel van archaea in de pens in combinatie met de

enterische methaanemissie. Tevens was de rangschikking consistent over een range van verschillende rantsoenen. Deze resultaten geven aan dat de gastheer bepalend was voor de eigen microbiota en dat fokprogramma's op basis van de samenstelling van het microbiom de enterische methaan emissie zou kunnen beïnvloeden (Roehe et al., 2016). In een studie van Sasson et al. (2017), met 47 HF melkkoeien werden in de microbiële populatie 22 operational taxonomic units geïdentificeerd, waarvan de aanwezigheid kon worden gerelateerd aan karakteristieken van het metabolisme in de pens, fysiologische eigenschappen van het dier en waarvan de erfelijkheid kon worden vastgesteld. De patronen in aanwezigheid en in het relatief aandeel van deze 22 operational taxonomic units in de microbiële populatie verklaarden een groot deel van de variantie in pens metabolisme, in fysiologische kenmerken en in efficiëntie (voeropname, netto energie in melk. en residuele voeropname). De resultaten geven aan dat bij runderen genetische en fysiologische kenmerken zijn gecorreleerd met de structuur en samenstelling van het microbiom, en dat de genetische aanleg van de gastheer het microbiom kan vormen door omstandigheden te scheppen ten gunste van bepaalde fylogenetische taxa die goed gedijen c.q. voordeel ondervinden onder die omstandigheden (Sasson et al., 2017). Wallace et al. (2019) hebben in een studie met 1000 koeien een fylogenetisch gelinkt en hiërarchisch gestructureerd erfelijk pens-microbiom geïdentificeerd. De structuur van het microbiom kon worden gelinkt aan fenotypische kenmerken zoals methaanemissie, pens- en bloedmetabolieten en efficiëntie van melkproductie. De fenotypische kenmerken kunnen worden voorspeld uit het kern-microbiom. Daarmee kan kennis over het erfelijke kern-microbiom worden benut om het pens-metabolisme te manipuleren in de richting van een meer milieuvriendelijke veehouderij (Wallace et al., 2019).

4.4 Erfelijkheid van CH₄ emissie

Een belangrijke speerpunt met betrekking tot manipulatie van het microbiom is vermindering van de enterische methaan-emissie. Goopy et al. (2014) toonde aan dat schapen met een lage methaan-emissie zich kenmerken door een kleinere pens en een kortere verblijftijd van de digesta in de pens. Bij een kleinere pens en een hogere turn-over in de pens werd een grotere heterofermentatieve activiteit met een grotere lactaat productie en lagere methaan productie gemeten (Kamke et al., 2016). Dit geeft aan dat dierspecifieke eigenschappen, en daarmee samenhangend de samenstelling van de microbiële populatie, het fenotype voor methaanproductie vormen. Individuele verschillen in voeropname en passagesnelheid van voerdeeltjes uit de pens verklaren een groot deel van de methaanproductie tussen dieren (Lyons et al., 2018). Identificatie van hoog en laag emitterende dieren is lastig omdat gedurende de lactatie de emissie intensiteit verandert (g CH₄ per kg FPCM; CH₄/kg DS opname of CH₄/NE_L opname). Dit is toe te schrijven aan afnemende voerefficiëntie (FPCM/kg DS, VEM/kg FPCM, of VEM balans/kg (metabool) lichaamsgewicht) gedurende de lactatie (Lyons et al., 2018). Echter, de correlatie tussen voer-efficiëntie factoren, en samenstelling van de microbiële populatie moet nog verder onderzocht worden (Lyons et al., 2018). Ondanks de veranderingen in de CH₄ emissie gedurende het verloop van de lactatie blijken tussen-diersverschillen in methaanemissie (bepaald op basis van MIR melkspectra en GreenFeed ademanalyses over een periode van 5 maanden) wel consistent te zijn (Denninger et al., 2019). Een deel van de verschillen in emissie intensiteit gedurende de lactatie zijn te verklaren uit de mobilisatie en aanzet van lichaamsreserves. In het begin van de lactatie is een deel van de gebruikte energie voor melkproductie afkomstig van mobilisatie van lichaamsreserves, terwijl in de tweede helft van de lactatie deze lichaamsreserves weer worden aangezet. Hierdoor veranderen ook de efficiëntiekenmerken (de FPCM/kg DM of FPCM/kg VEM opname) gedurende het verloop van de lactatie. Het mobiliseren van lichaamsreserves heeft mogelijk ook effect op de pensfermentatie. Bielak et al. (2016) definieerden twee groepen melkkoeien op basis van de mobilisatie van vetreserves (grote mobilisatie vs. kleine mobilisatie). Bij deze koeien was de CH₄ emissie niet gerelateerd aan de azijnzuur concentratie in de pens, de koeien met een hoge vetmobilisatie en een laag plasma azijnzuurgehalte hadden een lagere CH₄ emissie/kg DS en CH₄ emissie/kg NDF, dan dieren met een lage vetmobilisatie (Bielak et al., 2016). Er is een negatieve correlatie tussen vetmobilisatie en de plasmaniveaus CCK. Het hormoon CCK speelt een rol bij de regulatie van de motiliteit van het maagdarmkanaal. Dieren met een grote vetmobilisatie hadden lagere plasma niveaus van cholecystokinine (CCK) in het begin van de lactatie, dit ging gepaard met een grotere motiliteit van de pens en hogere passagesnelheid in de pens en daardoor een lagere CH₄ productie. Het directe verband tussen de plasma CCK concentratie en CH₄ productie in de pens en de negatieve correlatie tussen plasma NEFA als maat voor mobilisatie en CH₄ productie biedt mogelijk perspectieven om de interactie tussen het metabolisme van de gastheer en pensfermentatie te verklaren (Bielak et al., 2016). Brade (2019) komt tot de conclusie dat herkauwers geen genen in hun genoom hebben voor de methaan (CH₄). Verschillen die worden waargenomen tussen dieren in het niveau van CH₄-emissie zijn nog niet volledig verklaard.

Deze verschillen kunnen voor een deel verklaard worden op basis van individuele verschillen in de anatomie van het maagdarmkanaal, verteringsfysiologie en metabolisme. Het pensvolume en penspassagesnelheid van de digesta dragen bij aan de variabiliteit van CH₄ productie. De oorzaken voor de tussen diervariatie in CH₄-vorming moeten consequent worden onderzocht om fouten in de fokkerij te vermijden bijvoorbeeld het opzetten van een te eenzijdige intensieve selectie voor verminderde CH₄-emissie (Brade, 2019).

5 Manipulatie van het microbioom

5.1.1 Introductie van nieuw genetisch materiaal

Uit literatuurstudie zoals beschreven in de voorgaande paragrafen blijkt dat bij het volwassen dier het microbioom en de microbiota robuust en veerkrachtig zijn en daardoor moeilijk te sturen zijn. Permanente veranderingen in de samenstelling van de microben populatie is wellicht mogelijk door middel van inoculatie met (een mengsel van) microben die een nog onbenutte niche in de pens kunnen opvullen (Weimer, 2015). In het verleden is gebleken dat het mogelijk is geiten zonder natuurlijke resistentie tegen mimosine (giftig niet-eiwit aminozuur verwant aan tyrosine), toch resistent te maken door een bacteriestam (*Synergistes jonesii*) in de pens te enten afkomstig uit geiten die wel van nature resistent waren (Bickhart and Weimer, 2018). Een andere mogelijke oplossingsrichting is het inzetten van genetic engineering om de metabolische eigenschappen van reeds in de pens gekoloniseerde microbenstammen aan te passen, door het inbouwen van genetisch materiaal van een bacterieel plasmide of faag en op deze wijze nieuw genetisch materiaal aan het microbioom toe te voegen. Echter, het ontbreekt aan voldoende kennis over de betreffende mechanismen en de DNA sequenties om dit op korte termijn mogelijk te maken (Bickhart and Weimer, 2018).

5.1.2 Interventies bij het jonge dier: Early Life Programming

Het is moeilijk om de samenstelling van het microbioom in een volwassen dier met een volledig ontwikkelde pens te manipuleren. Echter, bij jonge dieren is de microben populatie minder stabiel. Al vanaf de allervroegste levensfase beginnen microbenpopulaties het maagdarmkanaal te koloniseren (Rey et al., 2014, Abecia et al., 2017, Dias et al., 2017, Yeoman et al., 2018). Deze kolonisatiefase biedt wellicht mogelijkheden om het microbioom te manipuleren (Yanez-Ruiz et al., 2015, Newbold and Ramos-Morales, 2020).

Reeds voor 1960 was bekend dat het rantsoen in het jonge leven een effect heeft op de microbenpopulatie in het maagdarmkanaal en de structuur van de pens (Goopy, 2019). Morvan et al. (1994) vonden in experimenten dat het microbioom in een vroeg stadium van het leven wordt bepaald. Bij lammeren van 20 uur oud werd al een sterke kolonisatie van waterstofafhankelijke acetogene microben gevonden, terwijl methanogene microben op dat moment nog niet aanwezig waren. Methanogenen ontwikkelenden zich na 30 uur, de toename van de methanogenen leidde tot een proportionele afname van acetogene microben, hetgeen wijst op competitie tussen acetogene en methanoge microben. Waterstof gebruikende sulfaat reducerende microben verschenen pas na 72 uur en werden niet beïnvloed door competitie met acetogenen en methanogenen.

Onderzoek van Dias et al. (2017) liet zien dat de archaeale, bacteriele en fungi taxa, die ook in de volwassen pens wordt gevonden, al aanwezig zijn bij nog niet herkauwende kalveren van 7 dagen oud. Dit geeft aan dat de kolonisatie plaatsvindt zonder dat er vast voer wordt opgenomen. Dit werd ook gevonden door Rey et al. (2014). Kolonisatie van de pens vindt plaats in verschillende fasen en gaat door tot er een stabiele microbiële populatie is gevormd (Rey et al., 2014, Abecia et al., 2017). Rey et al. (2014) zag dat tot de tweede dag na geboorte, de initiële fase, de microben populatie in de pens vooral uit proteobacteria (70%) en bacteroidetes (14%) bestond. Tussen dag 2 en 3 vond er een sterke verandering plaats die duurde tot ca. dag 12, waarin de bacteroiden (21%), prevotella (11%), fusobacterium (5%) en Streptococcus (4%) tot de meest voorkomende genera behoorden. Vanaf dag 15 tot 83 de periode waarin de dieren vast voer begonnen op te nemen, werd prevotella de dominante genera (42%), terwijl sommige genera sterk afnamen of geheel verdwenen.

De initiële fase van de kolonisatie van de pens vindt plaats gedurende de eerste dagen na de geboorte, de microbiota zijn vooral afkomstig uit de omgeving en de moeder, zoals de geboorteweg, huid, biest (Yeoman et al., 2018). Vanaf dag 3, begint de transitiefase waarin wordt overgeschakeld van biest naar melk. Vanaf dag 15 begint de maturatie fase. Hierin vestigen zich alle bacteriële taxa en microbiële groepen in de pens die ook in het volwassen dier aanwezig zijn.

In diverse studies is onderzoek gedaan naar het effect van de voer- en speenstrategie bij jonge herkauwers (Abecia et al., 2014, Yanez-Ruiz et al., 2015, Abecia et al., 2017, Belanche et al., 2019), in deze studies werden effecten gevonden op de microbiële kolonisatie van de pens.

De voer- en speenstrategie (biest, met melk, biest met kunstmelk, kunstbiest met kunstmelk) bij jonge lammeren kan resulteren in significante verschillen in de samenstelling van de microbiële populatie en pensfermentatie (Belanche et al., 2019).

Op 23 weken leeftijd bleken lammeren opgefokt met echte biest en echte melk een grotere diversiteit aan fungi en protozoa en een 4% hogere verteerbaarheid van het rantsoen te hebben. Maar deze verschillen bleken niet te resulteren in verschillen in productiviteit. Verder werd geconcludeerd dat het rantsoen in het vroege leven bepalend is voor de vorming van het microbioom, maar dat de persistentie hiervan zwak is (Belanche et al., 2019).

Interventies in het vroege leven via het rantsoen kan op verschillende manieren. Ten eerste door directe inoculaties met specifieke microben en het gebruik van additieven die de kolonisatie van bepaalde groepen microben kan remmen of stimuleren. Bijvoorbeeld, bromochloromethane (BCM) in het rantsoen van geitenlammeren beïnvloedde de kolonisatie van archaea en resulteerde in een 50% reductie van de methaanemissie. Dit effect hield 3 maanden stand (Abecia et al., 2014). Dit geeft aan dat sommige interventies gericht op modulatie van de kolonisatie van de pens een langduriger effect hebben. Echter, het optimale tijdstip en de levensfase waarin deze interventies het meest succesvol zijn voor effecten op lange termijn moet nog worden vastgesteld (Huws et al., 2018). Ook de mechanismen zijn nog niet bekend. Mogelijkerwijs spelen complexe processen met Toll-like receptors een centrale rol (Malmuthuge et al., 2012). Deze Toll-like receptoren (TLRs) zijn aanwezig in weefselcellen van het maagdarmkanaal en bestaan uit herkenningseiwitten en receptoren die interacties aangaan met microben die een rol spelen bij het handhaven van homeostase in het maagdarmkanaal. De genexpressie van TLRs wordt negatief beïnvloed door de leeftijd van het dier. Afhankelijk van de plaats in het maagdarmkanaal kan de genexpressie negatief of positief gecorreleerd zijn met de samenstelling van de microbenpopulatie (Malmuthuge et al., 2012). In de literatuur wordt vaak gesproken over "langdurige" effecten. Echter, meestal gaat dit om een periode van enkele maanden in het leven van schapen en geiten (Abecia et al., 2014, Yanez-Ruiz et al., 2015). Echte langdurige effecten van interventies bij runderen zijn (nog) niet beschreven.

6 Conclusies

Definitie en bepalen microbioom

De termen microbioom, en microbiota en microbiële populatie worden door elkaar gebruikt. Er wordt gesproken van een microbioom wanneer het gaat om de verzameling microbiële genomen die in een bepaalde omgeving van de gastheer voorkomen. Onder de microbiota wordt verstaan de verzameling van populaties van verschillende microben die in een bepaalde omgeving voorkomen.

Het microbioom kan wat betreft samenstelling, taxonomie en functionaliteit worden gekarakteriseerd door middel van "Next Generation Sequencing" (NGS) technieken. De ontwikkelingen op dat gebied gaan zeer snel.

Interpretatie en vergelijking van de kwantitatieve gegevens over het voorkomen van diverse microbiële taxa, is alleen goed mogelijk tussen individuele dieren en rantsoenen binnen één studie of onderzoek, of tussen studies waarbij identieke methoden (monstername, diersoort, leeftijd,) en technieken zijn gebruikt voor het isoleren en analyseren van DNA.

Microbiom en omgevingsfactoren

Er bestaat een grote consistentie in de samenstelling van het kern microbiom over een groot regionaal gebied en soorten herkauwers. Dit wijst er op dat geografie gekoppelde effecten zoals grondsoort en klimaat een gering effect hebben. Verschillen in de microbiële populaties kunnen vooral worden toegeschreven aan het rantsoen, en dus het management en in mindere mate aan de gastheer.

Ingrepen in het rantsoen en het gebruik van additieven is het meest effectief om de microbenpopulatie te manipuleren op korte termijn. Ingrepen in het rantsoen kunnen gericht zijn op het voerniveau, verteerbaarheid, ruwvoer-krachtvoer verhouding, en de aanwezigheid van specifieke stoffen (bijv. saponinen, tannines). De effecten van rantsoeningrepen moeten in de gehele microbiële populatie worden onderzocht en niet alleen in deel populaties (bijv. het bacterionoom).

Microbiom en dierfactoren

De microbiële populatie is deels individueel bepaald. De mechanismen hier achter zijn nog onopgehelderd. Wellicht spelen microben aan het pens-epitheel hier in een rol en kan er sprake zijn van een invloed van het immuunsysteem. Mogelijk speelt ook de genetica van het dier een rol. Het microbiom is mogelijk erfelijk bepaald. Wellicht is dit gerelateerd aan allerlei kenmerken zoals de morfologie van de pens. Ook komen ouder en jong uit hetzelfde milieu, mogelijk speelt de overdracht van micro-organismen een rol bij de waargenomen "erfelijkheid".

Verschillen in enterische CH₄ productie tussen dieren kan deels worden verklaard uit de morfologie van het dier. Een kleinere pens en een hogere passagesnelheid resulteert in een lagere CH₄ emissie.

Verschillen in CH₄ emissie tussen dieren lijken consistent te zijn gedurende de lactatie.

Er is geen sprake van een gen voor CH₄ emissie in het genoom van het rund. De individuele verschillen in CH₄ emissie kunnen voor een deel verklaard worden op basis van individuele verschillen in de anatomie van het maagdarmkanaal, verteringsfysiologie en metabolisme

Manipulatie van het microbiom

De microbiële populatie is zeer robuust en veerkrachtig, daarom zijn interventies bij volwassen dieren zeer moeilijk. De impact van voeding, genetica en additieven en andere interventies is doorgaans onderzocht bij de microbiële populaties die verbonden zijn aan de vaste en vloeistoffase van de pensinhoud. Echter ook de microbiële populatie die aan het pens-epitheel is gehecht is sterk van de gastheer afhankelijk en mogelijk een verklaring voor de robuustheid en resistentie van het microbiom.

Manipulatie van het microbioom is nog een grotendeels onontgonnen gebied. Introductie van nieuw genetisch materiaal in het microbioom zou een oplossingsrichting kunnen zijn. Echter, het ontbreekt aan kennis.

Interventies bij het jonge dier (dwz direct na de geboorte, alvorens vast voer wordt opgenomen) lijken het meest kansrijk om het microbioom gedurende langere tijd of het gehele leven te beïnvloeden. Kolonisatie van de pens treed al heel snel op, waarschijnlijk al tijdens de geboorte. In deze fase lijkt het dier ook het meest gevoelig voor interventies. Echter, de mechanismen en het optimale tijdstip is nog onduidelijk.

Ook moet de persistentie van de effecten nog verder worden onderzocht, bij voorkeur bij grote herkauwers. De huidige studies beperken zich tot dusverre tot kleine herkauwers.

Referenties

- Abecia, L., E. Jimenez, G. Martinez-Fernandez, A. I. Martin-Garcia, E. Ramos-Morales, E. Pinloche, S.E. Denman, C. J. Newbold, and D. R. Yanez-Ruiz. 2017. Natural and artificial feeding management before weaning promote different rumen microbial colonization but not differences in gene expression levels at the rumen epithelium of newborn goats. *PLoS One* 12(8):19.
- Abecia, L., E. Ramos-Morales, G. Martinez-Fernandez, A. Arco, A. I. Martin-Garcia, C. J. Newbold, and D. R. Yanez-Ruiz. 2014. Feeding management in early life influences microbial colonisation and fermentation in the rumen of newborn goat kids. *Anim. Prod. Sci.* 54(9):1449-1454.
- Belanche, A., D. R. Yanez-Ruiz, A. P. Detheridge, G. W. Griffith, A. H. Kingston-Smith, and C. J. Newbold. 2019. Maternal versus artificial rearing shapes the rumen microbiome having minor long-term physiological implications. *Environ. Microbiol.* 21(11):4360-4377.
- Bickhart, D. M. and P. J. Weimer. 2018. Symposium review: Host-rumen microbe interactions may be leveraged to improve the productivity of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101(8):7680-7689.
- Bielak, A., M. Derno, A. Tuchscherer, H. M. Hammon, A. Susenbeth, and B. Kuhla. 2016. Body fat mobilization in early lactation influences methane production of dairy cows. *Sci Rep* 6:13.
- Brade, W. 2019. Ruminants have no genes for methane production in their genome. *Ber. Landwirtschaft.* 97(2):29.
- Denninger, T. M., F. Dohme-Meier, L. Eggerschwiler, A. Vanlierde, F. Grandl, B. Gredler, M. Kreuzer, A. Schwarm, and A. Munger. 2019. Persistence of differences between dairy cows categorized as low or high methane emitters, as estimated from milk mid-infrared spectra and measured by GreenFeed. *J. Dairy Sci.* 102(12):11751-11765.
- Dias, J., M. I. Marcondes, M. F. Noronha, R. T. Resende, F. S. Machado, H. C. Mantovani, K. A. Dill-McFarland, and G. Suen. 2017. Effect of Pre-weaning Diet on the Ruminant Archaeal, Bacterial, and Fungal Communities of Dairy Calves. *Front. Microbiol.* 8:17.
- Dijkstra, J., J. France, J. L. Ellis, A. B. Strathe, E. Kebreab, and A. Bannink. 2013. Production efficiency of ruminants: feed, nitrogen and methane. *Sustainable Animal Agriculture*.
- Fernando, S. C., H. T. Purvis, F. Z. Najjar, L. O. Sukharnikov, C. R. Krehbiel, T. G. Nagaraja, B. A. Roe, and U. DeSilva. 2010. Rumen Microbial Population Dynamics during Adaptation to a High-Grain Diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(22):7482-7490.
- Fouhse, J. M., L. Smiegielski, M. Tuplin, L. L. Guan, and B. P. Willing. 2017. Host Immune Selection of Rumen Bacteria through Salivary Secretory IgA. *Front. Microbiol.* 8:848-848.
- Friedman, N., E. Jami, and I. Mizrahi. 2017. Compositional and functional dynamics of the bovine rumen methanogenic community across different developmental stages. *Environ. Microbiol.* 19(8):3365-3373.
- Goopy, J. P. 2019. Creating a low enteric methane emission ruminant: what is the evidence of success to the present and prospects for developing economies? *Anim. Prod. Sci.* 59(10):1769-1776.
- Goopy, J. P., A. Donaldson, R. Hegarty, P. E. Vercoe, F. Haynes, M. Barnett, and V. H. Oddy. 2014. Low-methane yield sheep have smaller rumens and shorter rumen retention time. *Br. J. Nutr.* 111(4):578-585.
- Henderson, G., F. Cox, S. Ganesh, A. Jonker, W. Young, P. H. Janssen, and C. Global Rumen Census. 2015. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Sci Rep* 5:13.
- Henderson, G., F. Cox, S. Kittelmann, V. H. Miri, M. Zethof, S. J. Noel, G. C. Waghorn, and P. H. Janssen. 2013. Effect of DNA Extraction Methods and Sampling Techniques on the Apparent Structure of Cow and Sheep Rumen Microbial Communities. *PLoS One* 8(9):14.
- Huws, S. A., C. J. Creevey, L. B. Oyama, I. Mizrahi, S. E. Denman, M. Popova, R. Munoz-Tamayo, E. Forano, S. M. Waters, M. Hess, I. Tapio, H. Smidt, S. J. Krizsan, D. R. Yanez-Ruiz, A. Belanche, L. Guan, R. J. Gruninger, T. A. McAllister, C. J. Newbold, R. Roehe, R. J. Dewhurst, T. J. Snelling, M. Watson, G. Suen, E. H. Hart, A. H. Kingston-Smith, N. D. Scollan, R. M. Prado, E. J. Pilau, H. C. Mantovani, G. T. Attwood, J. E. Edwards, N. R. McEwan, S. Morrisson, O. L. Mayorga, C. Elliott, and D. P. Morgavi. 2018. Addressing Global Ruminant Agricultural Challenges Through Understanding the Rumen Microbiome: Past, Present, and Future. *Front. Microbiol.* 9:33.

-
- Kamke, J., S. Kittelmann, P. Soni, Y. Li, M. Tavendale, S. Ganesh, P. H. Janssen, W. B. Shi, J. Froula, E. M. Rubin, and G. T. Attwood. 2016. Rumen metagenome and metatranscriptome analyses of low methane yield sheep reveals a Sharpea-enriched microbiome characterised by lactic acid formation and utilisation. *Microbiome* 4:16.
- Lyons, T., A. Bielak, E. Doyle, and B. Kuhla. 2018. Variations in methane yield and microbial community profiles in the rumen of dairy cows as they pass through stages of first lactation. *J. Dairy Sci.* 101(6):5102-5114.
- Malmuthuge, N. and L. L. Guan. 2017. Understanding host-microbial interactions in rumen: searching the best opportunity for microbiota manipulation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8:7.
- Malmuthuge, N., M. J. Li, P. Fries, P. J. Griebel, and L. L. Guan. 2012. Regional and age dependent changes in gene expression of Toll-like receptors and key antimicrobial defence molecules throughout the gastrointestinal tract of dairy calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 146(1):18-26.
- Morvan, B., J. Dore, F. Rieulesme, L. Foucat, G. Fonty, and P. Gouet. 1994. Establishment of hydrogen-utilizing bacteria in the rumen of the newborn lamb. *FEMS Microbiol. Lett.* 117(3):249-256.
- Newbold, C. J., G. de la Fuente, A. Belanche, E. Ramos-Morales, and N. R. McEwan. 2015. The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Front. Microbiol.* 6:14.
- Newbold, C. J. and E. Ramos-Morales. 2020. Review: Ruminal microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal* 14:S78-S86.
- O'Callaghan, T. F., R. Vazquez-Fresno, A. Serra-Cayuela, E. Dong, R. Mandal, D. Hennessy, S. McAuliffe, P. Dillon, D. S. Wishart, C. Stanton, and R. P. Ross. 2018. Pasture Feeding Changes the Bovine Rumen and Milk Metabolome. *Metabolites* 8(2):24.
- Petri, R. M., T. Schwaiger, G. B. Penner, K. A. Beauchemin, R. J. Forster, J. J. McKinnon, and T. A. McAllister. 2013. Characterization of the Core Rumen Microbiome in Cattle during Transition from Forage to Concentrate as Well as during and after an Acidotic Challenge. *PLoS One* 8(12):15.
- Pitta, D. W., N. Indugu, L. Baker, B. Vecchiarelli, and G. Attwood. 2018. Symposium review: Understanding diet-microbe interactions to enhance productivity of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101(8):7661-7679.
- Rey, M., F. Enjalbert, S. Combes, L. Cauquil, O. Bouchez, and V. Monteils. 2014. Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential. *J. Appl. Microbiol.* 116(2):245-257.
- Roehe, R., R. J. Dewhurst, C. A. Duthie, J. A. Rooke, N. McKain, D. W. Ross, J. J. Hyslop, A. Waterhouse, T. Freeman, M. Watson, and R. J. Wallace. 2016. Bovine Host Genetic Variation Influences Rumen Microbial Methane Production with Best Selection Criterion for Low Methane Emitting and Efficiently Feed Converting Hosts Based on Metagenomic Gene Abundance. *PLoS Genet.* 12(2):20.
- Sasson, G., S. K. Ben-Shabat, E. Seroussi, A. Doron-Faigenboim, N. Shterzer, S. Yaacoby, E. B. M. Margret, A. W. Bryan, H. C. Eran, and I. Mizrahi. 2017. Heritable Bovine Rumen Bacteria Are Phylogenetically Related and Correlated with the Cow's Capacity To Harvest Energy from Its Feed. *mBio* 8(4):12.
- van Gastelen, S., J. Dijkstra, and A. Bannink. 2019. Effect of silage characteristics on enteric methane emission from ruminants. *CAB Reviews* 14(051):8.
- Wallace, R. J., G. Sasson, P. C. Garnsworthy, I. Tapio, E. Gregson, P. Bani, P. Huhtanen, A. R. Bayat, F. Strozzi, F. B. Section, T. J. Snelling, N. Saunders, S. L. Potterton, J. Craigon, A. Minuti, E. Trevisi, M. L. Callegari, F. P. Cappelli, E. H. Cabezas-Garcia, J. Vilkki, C. Pinares-Patino, K. O. Fliegerova, J. Mrazek, H. Sechovcova, J. Kopečný, A. Bonin, F. Boyer, P. Taberlet, F. Kokou, E. Halperin, J. L. Williams, K. J. Shingfield, and I. Mizrahi. 2019. A heritable subset of the core rumen microbiome dictates dairy cow productivity and emissions. *Sci. Adv.* 5(7):12.
- Weimer, P. J. 2015. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Front. Microbiol.* 6:16.
- Weimer, P. J., M. S. Cox, T. V. de Paula, M. Lin, M. B. Hall, and G. Suen. 2017. Transient changes in milk production efficiency and bacterial community composition resulting from near-total exchange of ruminal contents between high- and low-efficiency Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 100(9):7165-7182.
- Yanez-Ruiz, D. R., L. Abecia, and C. J. Newbold. 2015. Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. *Front. Microbiol.* 6:12.
- Yeoman, C. J., S. L. Ishaq, E. Bichi, S. K. Olivo, J. Lowe, and B. M. Aldridge. 2018. Biogeographical Differences in the Influence of Maternal Microbial Sources on the Early Successional Development of the Bovine Neonatal Gastrointestinal tract. *Sci Rep* 8:14.
- Zhou, M., Y. J. Peng, Y. H. Chen, C. M. Klinger, M. Oba, J. X. Liu, and L. L. Guan. 2018. Assessment of microbiome changes after rumen transfaunation: implications on improving feed efficiency in beef cattle. *Microbiome* 6:14.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wur.nl/livestock-research

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

