Ranking enterische methaanemissie van melkgevende Holstein Friesian koeien

Screening van een melkveestapel om de koeien met de hoogste en laagste methaanemissie te identificeren, zodat die in vervolgonderzoek als donor van pensvloeistof gebruikt kunnen worden.

Sanne van Gastelen, Harmen van Laar en Léon Šebek

Openbaar
Rapport 1422

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Ranking enterische methaanemissie van melkgevende Holstein Friesian koeien

Screening van een melkveestapel om de koeien met de hoogste en laagste methaanemissie te identificeren, zodat die in vervolgonderzoek als donor van pensvloeistof gebruikt kunnen worden.

Sanne van Gastelen[1], Harmen van Laar[1] en Léon Šebek[1]

[1] Wageningen Livestock Research, Wageningen University & Research, Postbus 338, 6700 AH Wageningen, Nederland

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research en gesubsidieerd door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek thema 'B1 Emissie reductie methaan veehouderij' (projectnummer BO-53-003-011).

Wageningen Livestock Research
Wageningen,

Rapport 1422

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

van Gastelen, S., van Laar, H., en Šebek, L. 2023. *Ranking enterische methaanemissie van melkgevende Holstein Friesian koeien; Screening van een melkveestapel om de koeien met de hoogste en laagste methaanemissie te identificeren, zodat die in vervolgonderzoek als donor van pensvloeistof gebruikt kunnen worden.* Wageningen Livestock Research, Rapport 1422.

Dit rapport is gratis te downloaden op https://doi.org/10.18174/631038 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, 2023
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 gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Inhoud

Voorwoord **5**

Samenvatting **6**

1 Introductie **7**

2 Materiaal en Methoden **8**

2.1 Proefopzet 8
2.2 Rantsoen 8
2.3 Voeren en huisvesting 8
2.4 Monstername en metingen 10
2.4.1 Voeropname, melkgift en lichaamsconditie 10
2.4.2 Methaan en koolstofdioxide metingen 11
2.4.3 Voer- en melkmonsters 11
2.4.4 Chemische analyse 11
2.5 Berekeningen 11
2.6 Data-analyse 12

3 Resultaten en Discussie **13**

3.1 Lichaamsconditie, voeropname en lactatiekenmerken 13
3.2 Emissies 14
3.3 Selectie koeien 15

4 Conclusies **18**

Literatuur **19**

Bijlage 1 Weekgemiddelde methaan opbrengst (g/kg droge stof opname) per koe **21**

Voorwoord

De wereldwijde klimaatdoelstellingen voor de lange termijn, die in december 2015 door bijna 200 landen zijn aangenomen met het Akkoord van Parijs, impliceren de noodzaak van meer inspanningen voor broeikasgasemissiereducties in Nederland. Ten opzichte van het referentiejaar 1990 moet de Nederlandse uitstoot van broeikasgassen in 2030 met 49% en in 2050 met 95% dalen. De vertaling van de doelen van het internationale klimaatregime naar de context van Nederland is gebaseerd op de vergelijking van verschillende emissiereductiescenario's. Deze scenario's omvatten reductiedoelstellingen voor de zuivelsector en onthulden dat het verminderen van methaan (CH_4) emissies van o.a. melkvee belangrijk is. Dit betreft de totale CH_4 emissie van de melkveestapel, bestaande uit CH_4 die vrijkomt uit de koe (enterische CH_4; ~70% van de CH_4 emissies in de melkveehouderij) en CH_4 uit de mest (~30% van de CH_4 emissies in de melkveehouderij). Het is gebleken dat de reductiepotentie voor enterische CH_4 emissie bij melkvee groot is en dat deze potentie via 2 sporen benut kan worden, namelijk via voerstrategieën en via beïnvloeding van het microbioom in de pens. Het in dit rapport beschreven onderzoek richt zich op het spoor van microbioom en heeft als doel het gebruik van het microbioom ter reductie van CH_4 emissie van melkvee verder te ontwikkelen. Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research en gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

Samenvatting

Het is gebleken dat de reductiepotentie voor enterische methaan (CH_4) emissie bij melkvee groot is en dat deze potentie via 2 sporen benut kan worden, namelijk via voerstrategieën en via beïnvloeding van het microbioom in de pens. Het beschreven onderzoek richt zich op het spoor van microbioom en heeft als doel het gebruik van het microbioom ter reductie van CH_4 emissie van melkvee verder te ontwikkelen. Dit rapport beschrijft een dierstudie waarin de enterische CH_4 emissie van melkkoeien wordt bepaald met als doel om 6 laag CH_4-producerende koeien en 6 hoog CH_4-producerende koeien te selecteren. Deze geselecteerde dieren zullen in vervolgonderzoek (niet onderdeel van dit rapport) dienen als donordier voor pensvloeistof. De dierstudie was opgebouwd uit 3 rondes van 3 weken, elk bestaande uit 2 weken adaptatie gevolgd door 1 meetweek. Er werden in totaal 192 melkkoeien ingezet, namelijk 64 melkkoeien per ronde (3 x 64 = 192). Tijdens deze dierstudie op Dairy Campus kregen alle melkkoeien een rantsoen voor melkgevende koeien gevoerd, bestaande uit grassilage, maissilage, krachtvoer, sojaschroot en gerstemeel. Tijdens de dierstudie werd uiteraard CH_4 emissie gemeten, alsmede de individuele droge stof opname, lichaamsgewicht, lichaamsconditiescore, melkgift en melksamenstelling om te beoordelen of er representatieve Holstein Friesian melkkoeien (voor NL gemiddelde) gebruikt zijn in deze dierstudie. De CH_4 emissie werd gemeten met behulp van het GreenFeed systeem, waar een lokbrok werd aangeboden in 6 tijdblokken per dag om de koeien aan te moedigen tot het bezoeken van het GreenFeed systeem en een geschikte koppositie aan te houden voor nauwkeurige metingen, alsmede om de bezoeken aan de GreenFeed systemen gespreid over de dag (24 uur) plaats te laten vinden. Vier koeien zijn niet meegenomen in de data-analyse, omdat deze koeien onvoldoende emissiemetingen in de GreenFeed systemen hadden gerealiseerd en daardoor geen betrouwbare CH_4 emissie meting hadden. De data-analyse is daarom uitgevoerd op basis van 188 koeien. Het weekgemiddelde van de CH_4 opbrengst (g/kg droge stof voeropname) per koe is gebruikt om de koeien te rangschikken van laag naar hoog, van waaruit 6 laag CH_4-producerende koeien en 6 hoog CH_4-producerende koeien geselecteerd zijn. De 6 laag CH_4-producerende koeien hadden op het betreffende rantsoen een gemiddelde CH_4 opbrengst van 17,2 ± 0,62 g/kg droge stof opname en de 6 hoog CH_4-producerende koeien hadden een gemiddelde CH_4 opbrengst van 24,0 ± 1,25 g/kg droge stof opname. Het is onze hypothese dat dit verschil in CH_4 emissie veroorzaakt wordt door een verschillende samenstelling van het microbioom in de pens. Deze koeien zullen in vervolgonderzoek dienen als donordier voor pensvloeistof waarbij kalveren in het vroege leven geïnoculeerd worden met deze laag CH_4-vormende dan wel hoog CH_4-vormende pensvloeistof (om de overdraagbaarheid van het pensmicrobioom en het enterische CH4 emissieniveau te bestuderen).

1 Introductie

Methaan (CH_4) wordt in de pens van herkauwers gevormd als gevolg van microbiële fermentatie van het geconsumeerde voer. Deze CH_4 emissie is een broeikasgas wat bijdraagt aan de opwarming van de aarde. Het is de wens de CH_4 emissie uit de melkveehouderij te reduceren met 30% in 2030 en 50% in 2050. Huidige voerstrategieën bij volwassen melkvee kunnen hierbij helpen. Echter, om een reductie van 50% te halen, zullen aanvullende maatregelen nodig zijn. Eén van die mogelijkheden is het verlagen van het basisniveau van de CH_4 emissie van de melkveestapel. Dit zou gerealiseerd kunnen worden door de ontwikkeling van de samenstelling van het microbioom in de pens van het jonge kalf te sturen richting een samenstelling met een lage CH_4 emissie.
Inoculatie van de pens met een extern microbioom heeft bij volwassen melkkoeien weinig tot geen persistent effect, aangezien de oorspronkelijke samenstelling van het microbioom in de pens standhoudt (bijv. Weimer et al., 2015). Het pensmicrobioom stabiliseert vanaf ongeveer 6 maanden leeftijd (Morgavi and Popova, 2020), dus interventies die de samenstelling en het functioneren van het microbioom in de pens blijvend kunnen beïnvloeden zouden vóór 6 maanden leeftijd van het kalf plaats moeten vinden. Er zijn studies waarin geprobeerd is de ontwikkeling van de pens van jonge kalveren te verbeteren/versnellen door inoculatie met pensvloeistof van volwassen melkkoeien. Zo heeft Cersosimo et al. (2019) laten zien dat kalveren die tot 7 weken leeftijd geautoclaveerde pensvloeistof zonder protozoën toegediend kregen, vrij van protozoën bleven. Echter, de samenstelling van bacteriën was niet verschillend tussen kalveren die wel of geen bacterie-verrijkt geautoclaveerde pensvloeistof kregen, en de samenstelling van de bacteriën in de pens van de kalveren was maar kort vergelijkbaar met die van het inoculum. Bu et al. (2020) heeft laten zien dat er geen correlatie is tussen de samenstelling van het pensmicrobioom van geïnoculeerde kalveren (tot 77 dagen leeftijd) en het donor inoculum (afkomstig van pensgefistuleerde melkkoeien). Het inoculeren van kalveren had geen effect op de groeikenmerken van de kalveren, hoewel de incidentie van diarree bij de kalveren verminderd was. Er zijn tevens duidelijke aanwijzingen dat een kortdurende interventie met 3-nitrooxypropanol in het jonge leven van kalveren (tot 14 weken leeftijd) effect heeft op zowel de CH_4 emissie als de samenstelling van het pensmicrobioom op latere leeftijd (1 jaar oud; Meale et al., 2021). Daarom is er ook perspectief voor het op een andere wijze sturen van het pensmicrobioom. Mogelijk heeft inoculatie op jonge leeftijd vergelijkbare, langdurige effecten en de potentie om het pensmicrobioom op lange termijn te sturen richting een lage CH_4 productie. Er is echter geen literatuur beschikbaar waarin de pens van het jonge kalf geïnoculeerd wordt met een specifiek laag CH_4 producerend microbioom.
Het huidige rapport betreft een rapport uit een reeks rapporten, met als doel te onderzoeken of de samenstelling van het microbioom in de pens van het jonge kalf gestuurd kan worden naar een samenstelling met een lage CH_4 emissie. Voordat jonge kalveren geïnoculeerd kunnen worden met een laag CH_4-vormende pensvloeistof, moeten er eerst geschikte donordieren gevonden worden met behulp van een screeningproef. Dit rapport beschrijft dan ook een dierstudie waarin de CH_4 emissie van Holstein Friesian (HF) melkkoeien wordt bepaald (ook wel de *screening* genoemd) om vervolgens 6 laag CH_4-producerende koeien en 6 hoog CH_4-producerende koeien te selecteren. Deze geselecteerde dieren zullen in vervolgonderzoek (geen onderdeel van het huidige rapport) dienen als donordier voor pensvloeistof (rapportage *donordieren*) waarbij kalveren in het vroege leven geïnoculeerd worden met deze laag CH_4-vormende dan wel hoog CH_4-vormende pensvloeistof (om de overdraagbaarheid van het pensmicrobioom en het enterische CH4 emissieniveau te bestuderen; rapportage *inoculatie kalveren*).

2 Materiaal en Methoden

2.1 Proefopzet

De dierstudie is uitgevoerd van januari t/m maart 2022 op de onderzoeksfaciliteiten van Wageningen Livestock Research (Dairy Campus, Leeuwarden, Nederland). De dierstudie was opgebouwd uit 3 rondes van 3 weken, elk bestaande uit 2 weken adaptatie gevolgd door 1 meetweek. Er werden in totaal 192 melkkoeien ingezet, namelijk 64 melkkoeien per ronde (3 x 64 = 192). Van de 192 melkkoeien, waren 35 koeien in de eerste lactatie, 38 koeien in de tweede lactatie en 119 koeien in de derde lactatie of hoger. De melkkoeien bevonden zich zoveel mogelijk in het begin van lactatie, omdat de geselecteerde koeien voor vervolgonderzoek nog een half jaar als lacterend donordier dienden te fungeren. De melkkoeien van ronde 1 mochten daarom bij de start van de studie maximaal 90 dagen in melk (DIM) zijn en de melkkoeien van rondes 2 en 3 mochten, respectievelijk, maximaal 120 en 150 DIM bij de start zijn. Uiteindelijk waren de 192 melkkoeien 92 ± 62,3 dagen in melk aan de start van de proef.

2.2 Rantsoen

Alle melkkoeien, onafhankelijk van ronde, kregen hetzelfde basisrantsoen gevoerd. Dit rantsoen was gelijk aan het Dairy Campus basisrantsoen voor melkkoeien en bestond uit grassilage, maissilage, krachtvoer (in meelvorm om selectie te minimaliseren), sojaschroot en gerstemeel. De chemische samenstelling van de individuele rantsoencomponenten is weergegeven in Tabel 1. De grondstof en chemische samenstelling van het rantsoen is weergegeven in Tabel 2. Het Dairy Campus basisrantsoen was door Agrifirm samengesteld op basis van de beschikbare kuilkwaliteit en de behoeften van de melkkoeien (d.w.z. VEM en darm verteerbaar eiwit behoefte dekkend). Aan dit rantsoen werd water toegevoegd om een droge stof gehalte van 400 g/kg te realiseren om zo de voeropname te stimuleren.

Naast het rantsoen, kregen de melkkoeien nog 1 kg productiebrok in de melkstal tijdens het melken (d.w.z. tweemaal daags 500 gram; identieke hoeveelheid voor alle koeien) en tot ~2 kg GreenFeed lokbrok voor emissiemetingen. De exact opgenomen hoeveelheid van deze lokbrok was afhankelijk van de bereidheid van de melkkoeien om de GreenFeed systemen vrijwillig te bezoeken. Voor alle melkkoeien werd gebruik gemaakt van de volgende instellingen: minimaal 4 uur tussen twee GreenFeed bezoeken waarbij maximaal 9 zogenoemde cupdrops per bezoek en ~40 gram lokbrok per cupdrop verstrekt werd (= 6 bezoeken × 9 cupdrops × 40 gram = 2160 gram). De grondstof en de chemische samenstelling van zowel de productiebrok als de GreenFeed lokbrok zijn weergegeven in Tabel 1.

2.3 Voeren en huisvesting

De koeien kregen het rantsoen via een geautomatiseerd voersysteem aangeboden, bestaande uit de Trioliet voermengrobot (Triomatic HP 2 300, Trioliet, Oldenzaal, Nederland) voor het mengen van het rantsoen en voerbakken (RIC-systeem; Hokofarm Group BV, Marknesse, Nederland) om de individuele voeropname te meten. De Trioliet mengde het rantsoen driemaal daags in gelijke porties. Wekelijks werd bepaald hoeveel van elk van de rantsoencomponenten aan het rantsoen toegevoegd moest worden, op basis van de recent gemeten drogestof gehalten van elke individuele rantsoencomponent (gemiddelde van dagelijkse DS bepaald tijdens voorgaande week). De rantsoencomponenten werden automatisch uit hun bunker (silages) of silo (krachtvoermeel, gerstemeel en sojaschroot) gehaald, gewogen en getransporteerd naar de Trioliet-voermengrobot. Nadat de laatste rantsoencomponent aan de Trioliet was toegevoegd, werden de rantsoenen 10 minuten gemengd en vervolgens naar de RIC-bakken getransporteerd. De rantsoenen werden ruim aangeboden gericht op 10% restvoer per dag, om onbeperkte voeropname mogelijk te maken.

Tabel 1 *Chemische samenstelling (in g/kg droge stof, tenzij anders aangegeven) van de individuele rantsoen componenten.*

	Grassilage	Maissilage	Krachtvoermeel[1]	Sojaschroot	Gerstemeel	Productiebrok[2]	GreenFeed lokbrok[3]
Droge stof (g/kg)	354	393	888	878	878	881	874
Organische stof	888	957	922	928	972	914	921
Ruw eiwit	192	72	168	533	120	165	146
Ruw vet	33	31	52	26	34	47	41
Energie (MJ/kg droge stof)	18,3	18,7	18,3	19,4	18,3	18,0	18,0
NDF	467	348	334	134	212	315	372
ADF	285	199	190	71	77	176	224
ADL	6	5	54	1	8	51	19
Zetmeel	n.b.[4]	377	283	13	540	282	113
Suiker	43	n.b.[4]	36	103	26	64	94
VEM	896	1008	959	1.026	975	970	1.029
Darm verteerbaar eiwit	55	52	96	244	75	100	86
Onbestendig eiwit balans (2007)	52	-49	0	176	-21	-5	-6

[1] Samenstelling (in g/kg droge stof): palmpitschilfers = 340, tarwegries = 149, citruspulp = 148, mais = 116, tarwe = 77, raapschroot Mervobest = 41, bietenpulp = 26, gerst = 20, NaCl = 18, $CaCO_3$ = 18, citrocol = 10, vinasse = 9, maisglutenvoer = 7, raapschroot = 7, MgO = 5, ureum = 5, zonnebloempitschilfers = 2 en mineralen en vitaminen premix = 2.

[2] Geen component van het rantsoen, wordt verstrekt tijdens het melken. Samenstelling (in g/kg droge stof): palmpitschilfers = 296, mais = 283, tarwe 90, raapschroot Mervobest = 65, biet melasse = 62, raapschroot = 47, maisglutenvoer = 33, vinasse = 30, citruspulp = 27, tarwegries = 21, $CaCO_3$ = 23, NaCl = 8, citrocol = 6, MgO = 5, mineralen en vitaminen premix = 2 en $NaHCO_3$ = 1.

[3] Geen component van het rantsoen, wordt verstrekt in de GreenFeed systemen als lokbrok. Samenstelling (in g/kg droge stof): bietenpulp = 300, sojaschroot = 221, maisglutenvoer = 87, tarwe = 72, alfalfa = 70, zonnebloempitschilfers = 70, suikersiroop = 50, gerst = 50, mais = 49, raapschroot = 21 en NaCl = 10.

[4] Niet bepaald; wordt aangenomen niet aanwezig te zijn (d.w.z. 0 g/kg droge stof).

Tabel 2 *Grondstof en chemische samenstelling (in g/kg droge stof, tenzij anders aangegeven) van het rantsoen, waar zowel de productiebrok (~1,0 kg product per dag in melkstal) als de GreenFeed lokbrok (~2.1 kg product per dag) geen onderdeel van zijn.*

	Rantsoen
Grondstof samenstelling	
Grassilage	459
Maissilage	197
Krachtvoermeel	278
Sojaschroot	42
Gerstemeel	24
Chemische samenstelling	
Droge stof (g/kg)[1]	400
Organische stof	915
Ruw eiwit	175
Ruw vet	38
Energie (MJ/kg droge stof)	18,4
NDF	386
ADF	228
ADL	19
Zetmeel	167
Suiker	35
VEM	943
Darm verteerbaar eiwit	74
Onbestendig eiwit balans	21

[1] Water was toegevoegd aan het rantsoen om een droge stof van 400 g/kg te realiseren.

De melkkoeien werden als 1 groep gehuisvest in een ligboxenstal, met 64 ligboxen, 32 RIC-bakken voor het voeren en 3 GreenFeed systemen (C-Lock Inc., Rapid City, South Dakota, Amerika) voor emissiemetingen. Zowel de RIC-bakken als de GreenFeed systemen waren vrij toegankelijk (d.w.z. melkkoeien waren niet specifiek aan bepaalde RIC-bakken of GreenFeed systemen toegewezen). De ligboxen waren bedekt met in de handel verkrijgbare rubberen veematten en met zaagsel als strooisel en werden dagelijks schoongemaakt. De stal was verlicht van 05:00 tot 23:00 uur. De koeien hadden continue vrij toegang tot schoon drinkwater en werden tijdens het hele experiment tweemaal daags gemolken rond 05:00 en 15:00 uur.

2.4 Monstername en metingen

2.4.1 Voeropname, melkgift en lichaamsconditie

De RIC-bakken waren uitgerust met een geautomatiseerd identificatiesysteem (monitor ID-systeem op basis van transponders aan de halsband van de melkkoeien) om toegang mogelijk te maken. Voor elk bezoek van een koe aan een RIC-bak werd de begin- en eindtijd van het bezoek en het begin- en eindgewicht van de RIC-bak geregistreerd om van daaruit de dagelijkse voeropname te bepalen.
Koeien werden gemolken in een melkcarrousel geschikt voor 40 koeien met automatische koeidentificatie, melkregistratie en melkstelverwijdering (AutoRotor PerFormer, Gea Farm Technologies, Leeuwarden, Nederland). Het lichaamsgewicht en de lichaamsconditiescore van elke koe (geïdentificeerd via een monitor-ID-systeem) werd tweemaal daags geregistreerd tijdens het hele onderzoek. Koeien werden gewogen bij het verlaten van de melkcarrousel met behulp van een Gea weegschaal (Gea Farm Technologies Nederland B.V., Deventer, Nederland). De lichaamsconditiescore van de koeien werd ook bepaald bij het verlaten van de melkcarrousel met behulp van een DeLaval BCS-camera (DeLaval B.V., Steenwijk, Nederland).

2.4.2 Methaan en koolstofdioxide metingen

De gasvormige emissies van CH_4 en koolstofdioxide (CO_2) werden gemeten op individueel koeniveau met behulp van 3 GreenFeed systemen (C-Lock Inc.; Zimmerman et al., 2011). Het GreenFeed systeem meet zowel de luchtstroom als de concentraties van CH_4 en CO_2 in de afvoerlucht. Elk GreenFeed systeem was uitgerust met een koppositie-sensor en gasemissiegegevens werden afgewezen wanneer niet aan de criteria voor de koppositie werd voldaan. De gegevensverzameling was afhankelijk van de vrijwillige bezoeken van de koeien aan de GreenFeed systemen. De GreenFeed lokbrok (Tabel 1) werd aangeboden om de koeien te verleiden om verdeeld over de dag de GreenFeed systemen te bezoeken en om de koeien tijdens een bezoek aan te moedigen een geschikte kopppositie aan te houden voor nauwkeurige metingen. Emissies van CH_4 en CO_2 werden berekend door de geregistreerde achtergrondgasconcentratie af te trekken van de gasconcentraties die tijdens het bezoek van een melkkoe in de GreenFeed werden geregistreerd. Dit verschil in concentratie werd vervolgens vermenigvuldigd met de luchtstroom om tot een emissiesnelheid in gram per dag te komen, met behulp van de ideale gaswet en correctie voor temperatuur en druk. Zie van Gastelen et al. (2022) voor meer details over de procedures die in dit onderzoek worden toegepast voor het GreenFeed-systeem. De gemiddelde CO_2-terugwinning was 98,1% (voor individuele GreenFeed-systemen tussen 98,0 en 98,4%).

2.4.3 Voer- en melkmonsters

Wekelijks werden er monsters van individuele rantsoencomponenten, productiebrok en GreenFeed lokbrok verzameld en vervolgens bewaard bij −20 °C in afwachting van analyse. Daarnaast werd wekelijks, tijdens zowel een ochtend melking en avond melking, een melkmonster (10mL) verzameld in een buis met natriumazide (5 µL) voor conservering. Deze werden niet langer dan 1 dag bij 4 °C bewaard en voor analyse op vet-, eiwit-, lactose- en ureumgehalte alsmede celgetal naar Qlip BV (Zutphen, Nederland) gestuurd. Een gewogen gemiddelde dagelijkse melksamenstelling werd berekend op basis van de gemeten melksamenstelling in combinatie met de melkgift van beide melkingen.

2.4.4 Chemische analyse

Vlak voor analyse werden de voermonsters uit de vriezer gehaald, ontdooid bij kamertemperatuur, gevriesdroogd tot een constant gewicht (alleen silages) en gemalen met behulp van een kruisklopmolen voor de silages (Peppink 100AN) en met een ultracentrifugale molen voor alle andere rantsoencomponenten (Retsch ZM200, Retsch GmbH). De monsters werden vervolgens geanalyseerd voor droge stof, as, stikstof, zetmeel (behalve graskuil), suikers (behalve maïskuil), ruw vet, NDF, ADF en ADL zoals beschreven door Abrahamse et al. (2008). Bruto-energie werd bepaald met behulp van bomcalorimetrie (ISO 9831; International Organization for Standardization, 1998), en ruw eiwit werd berekend als stifstof × 6,25, waarbij stikstof werd bepaald met behulp van de Kjeldahl-methode (ISO 5983; Internationale Organisatie voor Standaardisatie, 2005). De stikstof-concentraties in beide silages zijn bepaald in vers materiaal volgens Klop et al. (2016).

Het melkvet-, eiwit- en lactosegehalte en het celgetal in de melkmonsters werden bepaald door middel van infraroodspectroscopie met behulp van MilkoScan FT 6000-apparatuur (Foss, Hillerod, Denemarken; ISO 9622, Internationale Organisatie voor Standaardisatie, 2013). Het melkureumgehalte werd bepaald met behulp van de pH-verschiltechniek (ISO 14637; Internationale Organisatie voor Standaardisatie, 2004).

2.5 Berekeningen

De melksamenstelling werd gecorrigeerd voor verschillen in melkgift tussen melkingen op dezelfde dag en deze gewogen melksamenstelling werd gebruikt voor verdere analyse. De vet- en eiwit-gecorrigeerde melk productie werd vervolgens berekend volgens de vergelijking FPCM (kg/d) = (0,337 + 0,116 × vet % + 0,06 × eiwit %) × melkgift (kg/d) (CVB, 2016).

2.6 Data-analyse

Voor de data-analyse is alleen gekeken naar de 3de week; de meetweek, aangezien de eerste 2 weken als adaptatie beschouwd werden waarbij de gemeten CH_4 emissie nog niet stabiel was en nog niet representatief voor het rantsoen dat de melkkoeien gevoerd kregen. Vier koeien zijn niet meegenomen in de data-analyse, omdat deze koeien onvoldoende emissiemetingen in de GreenFeed systemen hadden gerealiseerd. Volgens Manafiazer et al. (2017) moeten er tenminste 20 emissiemetingen zijn (in het geval van deze dierproef, 20 emissiemetingen in de meetweek) om tot een betrouwbare emissieschatting te komen. De data-analyse is dus uitgevoerd op 188 koeien.
Alle variabelen met betrekking tot voeropname, lichaamsconditie, lactatiekenmerken en emissies werden gemiddeld per koe per week met behulp van de MEANS procedure in SAS (versie 9,4, SAS Institute Inc., Cary, NC, Amerika). Daarnaast is de gemiddelde CH_4 productie per uur van de dag bepaald met de MEANS procedure in SAS op basis van alle koeien om te kijken of het volledige dagprofiel vastgelegd was en we met betrouwbare emissiemetingen te maken hebben. Het weekgemiddelde van de CH_4 opbrengst (g CH_4/kg droge stof voeropname) per koe is vervolgens gebruikt om de koeien te rangschikken van laag naar hoog en de 6 laagst CH_4-producerende koeien en 6 hoogst CH_4-producerende koeien te selecteren. Bij deze selectie is ook rekening gehouden met lactatiestadium, dracht en karakter (d.w.z. het moesten koeien zijn waarbij geen problemen verwacht werden voor het frequent verzamelen van pensvloeistof door middel van de penssonde wanneer zij als donordier zouden fungeren).

3 Resultaten en Discussie

3.1 Lichaamsconditie, voeropname en lactatiekenmerken

De beschrijvende statistiek rondom lichaamsconditie, voeropname en lactatiekenmerken is weergegeven in Tabel 3. Deze gegevens worden gebruikt om de gebruikte HF melkkoeien van deze dierstudie objectief te beschrijven alsmede om te beoordelen of de gebruikte HF melkkoeien representatief zijn voor het NL gemiddelde. De koeien wogen gemiddeld 669 kg en hadden een lichaamsconditiescore van 3,06. De koeien hadden een gemiddelde droge stof opname van 24,7 kg/d, bestaande uit 22,2 kg droge stof/d van het basisrantsoen, 1,66 kg droge stof/d van de GreenFeed lokbrok en 0,88 kg droge stof/d van de productiebrok. De koeien produceerden gemiddeld 35,3 kg melk/d met respectievelijk, 4,56, 3,46 en 4,57 g/100 g aan vet, eiwit en lactose. Dit resulteert in een gemiddelde vet- eiwit-gecorrigeerde melkproductie van 37,6 kg/d. Het melkureumgehalte was gemiddeld 19 mg/dL en het celgetal 217 (× 1,000 cellen). De voerefficiëntie (d.w.z. kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk/ kg totale droge stof opname) was gemiddeld 1,52.

Tabel 3 *Beschrijvende statistiek rondom de lichaamsconditie, voeropname en lactatiekenmerken van de melkkoeien (n = 188) voor de laatste week (3de week in elke periode).*

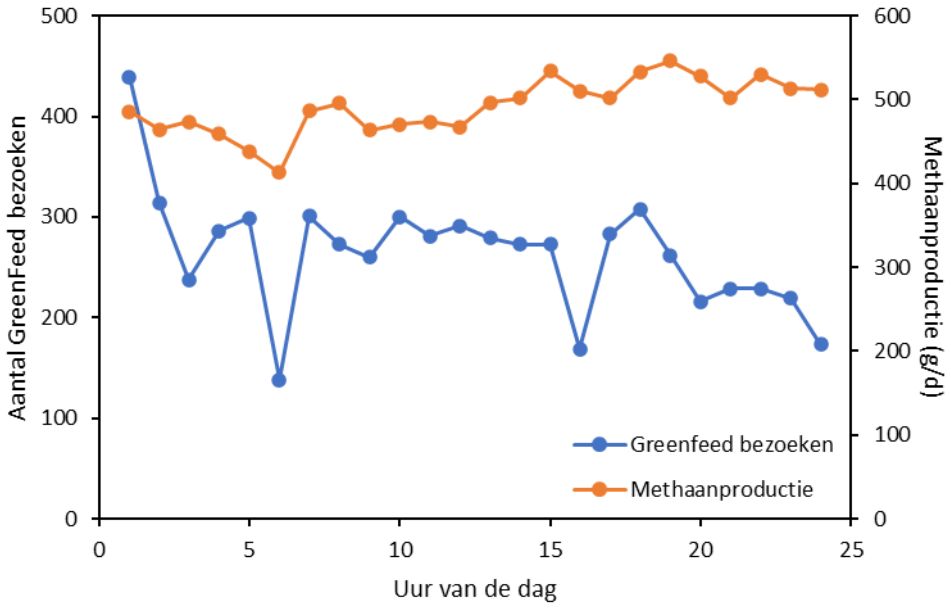
Variabele	Minimum	Maximum	Standaard afwijking	Gemiddelde
Lichaamsconditie				
Lichaamsgewicht (kg)	492	855	74,3	669
Lichaamsconditiescore	1,85	4,30	0,296	3,06
Voeropname (kg droge stof/d)				
Productiebrok	0,82	0,88	0,008	0,88
GreenFeed lokbrok	0,32	2,44	0,406	1,66
Rantsoen	14,7	29,0	2,92	22,2
Totaal	17,8	31,0	2,78	24,7
Melkproductie				
Melk (kg/d)	21,3	52,4	6,78	35,3
Vetgehalte (g/100 g)	1,98	6,71	0,574	4,56
Eiwitgehalte (g/100 g)	1,95	4,73	0,324	3,46
Lactosegehalte (g/100 g)	2,52	4,91	0,208	4,57
Celgetal (× 1,000 cellen)	5	5.691	629,4	217
Ureumgehalte (mg/dL)	6	31	4,0	19
Vetproductie (g/d)	593	2.532	293,3	1.592
Eiwitproductie (g/d)	584	1.585	184,4	1.205
Lactoseproductie (g/d)	755	2.328	316,4	1.612
Vet- en eiwit-gecorrigeerde melk (kg/d)	20,5	55,4	6,40	37,6
Voerefficiëntie (kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk/ kg droge stof opname)	1,00	2,08	0,195	1,52

De gemiddelde melkproductie en melksamenstelling (d.w.z. vet- en eiwitgehalten) liggen iets hoger dan het Nederlandse gemiddelde. Dit wordt veroorzaakt doordat de melkkoeien in deze dierstudie gemiddeld 92 ± 62,3 dagen in melk waren en een groot deel van de melkkoeien zich dus in vroege lactatie bevonden. Conform de lactatiecurve (Grossman en Koops, 1988) bereikt de melkproductie een piek gedurende de vroege lactatie. Melkvet- en eiwitgehalten zijn ook doorgaans hoger tijdens de vroege lactatie, terwijl het lactosegehalte juist relatief stabiel is (van Knegsel et al., 2007). Het gemiddelde melkureumgehalte komt overeen met waarden die in de praktijk worden waargenomen (20 mg/dL; Šebek et al., 2021). De gemiddelde voerefficiëntie is relatief hoog, naar alle waarschijnlijkheid omdat een groot deel van de melkkoeien zich nog in een negatieve energiebalans bevond. Tijdens deze periode kan de energiebehoefte voor hoge melkproductie niet volledig gedekt worden door de lage voeropname en gaan koeien

lichaamsreserves mobiliseren (van Knegsel et al., 2007). De melkkoeien gebruiken dus lichaamsreserves voor melkproductie. De voorefficiëntie waarden komen overeen met waarden die in de praktijk worden waargenomen.

3.2 Emissies

Het aantal bezoeken aan de GreenFeed systemen alsmede de gemiddelde CH_4 productie per uur van de dag (over alle koeien heen) zijn weergegeven in Figuur 1. De vrijwillige bezoeken aan de GreenFeed systemen waren goed verspreid over de dagelijkse 24-uursperiode. Dit wordt grotendeels veroorzaakt door de instellingen die worden gebruikt voor het GreenFeed-systeem (d.w.z. elke koe kan het GreenFeed systeem slechts om de 4 uur bezoeken met een maximum van 6 keer per dag). Er zijn relatief meer GreenFeed bezoeken aan het begin van de dag (tussen 00:00 en 01:00 uur), waarschijnlijk omdat het begin van een nieuwe dag gepaard gaat met een nieuwe dagtegoed aan GreenFeed bezoeken en lokbrok. Het lage aantal GreenFeed bezoeken tussen 05:00-06:00 uur en 15:00- 16:00 uur is gerelateerd aan de melkingen die op deze tijdstippen plaatsvonden. De goede spreiding van GreenFeed bezoeken over de dag hebben ervoor gezorgd dat het dagpatroon in de CH_4 productie ook is vastgelegd. De fluctuaties in de CH_4 productie zijn beperkt, mogelijk door de manier van voerverstrekking binnen deze dierstudie. Het rantsoen werd in de huidige studie 3 keer per dag in gelijke porties aangeboden, waarbij koeien ad libitum toegang hadden. Voermanagement, zoals de frequentie van voeren alsmede de voerhoeveelheid, kunnen een sterke invloed hebben op het dagprofiel van CH_4 productie (bijv. Brask et al., 2015). Het dagprofiel in CH_4 productie had waarschijnliijk sterker gefluctueerd in een situatie waarin bijvoorbeeld tweemaal daags gevoerd wordt of wanneer de koeien een beperkte hoeveelheid voer krijgen.



Figuur 1 *Het aantal GreenFeed bezoeken (blauw, linker y-as) en gemeten CH_4 productie (g/d; oranje, rechter y-as) per uur van de dag.*

Tabel 4 *Beschrijvende statistiek rondom de emissies van de melkkoeien (n = 188) voor de laatste week (3de week in elke periode).*

Emissies	Minimum	Maximum	Standaard afwijking	Gemiddelde
CH_4 productie (g/d)	349	677	61,9	494
CH_4 opbrengst (g/kg droge stof opname)	14,9	25,7	1,99	20,0
CH_4 intensiteit (g/kg melk)	9,8	22,7	2,67	14,4
CH_4 intensiteit (g/kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk)	9,2	20,0	2,06	13,4
CO_2 productie (g/d)	10837	17854	1407,7	14290
CO_2 opbrengst (g/kg droge stof opname)	479	719	45,7	580
CO_2 intensiteit (g/kg melk)	288	725	78,0	417
CO_2 intensiteit (g/kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk)	286	659	61,8	389
CH_4 tot CO_2 ratio (× 100)	2,85	3,94	0,219	3,46

De beschrijvende statistiek rondom CH_4 en CO_2 emissies is weergegeven in Tabel 4. De gemiddelde CH_4 productie was 494 g/d, welke gelijk is aan een CH_4 opbrengst van 20,0 g/kg droge stof opname en een CH_4 intensiteit van 14,4 g/kg melk. De range van de gemeten methaanemissies valt binnen de range die in de literatuur vermeld wordt (bijv. Appuhamy et al., 2016). De gemeten CO_2 productie was gemiddeld 14290 g/d en de CO_2 opbrengst was gemiddeld 580 g/kg droge stof opname. De gemeten producties van CH_4 en CO_2, resulteerden in een gemiddelde ratio van 3,46 (× 100) tussen deze 2 gassen. Deze waarden rondom CO_2 emissie komen overeen met andere studies (bijv. van Gastelen et al., 2022).

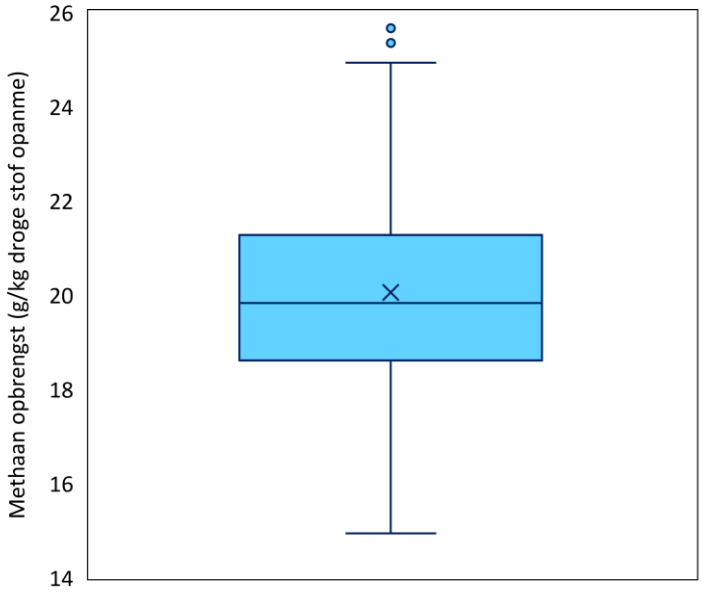
3.3 Selectie koeien

Het weekgemiddelde van de CH_4 opbrengst (g/kg droge stof voeropname) per koe is gebruikt om de koeien te rangschikken van laag naar hoog. Dit is weergegeven in Bijlage 1. Vanuit deze rangschikking zijn 6 laag CH_4-producerende koeien en 6 hoog CH_4-producerende koeien geselecteerd. Bij deze selectie is ook rekening gehouden met lactatiestadium, dracht en karakter (d.w.z. koeien moesten geschikt zijn voor het frequent verzamelen van pensvloeistof door middel van de penssonde). Door deze selectiecriteria zijn niet per se de 6 laagst CH_4-producerende koeien en 6 hoogst CH_4-producerende koeien geselecteerd. De geselecteerde koeien zijn weergegeven in Tabel 5 alsmede de gemiddelde CH_4 opbrengst van de categorieën *Laag methaan* en *Hoog methaan*. De 6 laag CH_4-producerende koeien hebben een gemiddelde CH_4 opbrengst van 17,2 ± 0,62 g/kg droge stof opname en de 6 hoog CH_4-producerende koeien hebben een gemiddelde CH_4 opbrengst van 24,0 ± 1,25 g/kg droge stof opname. De gemiddelde CH_4 opbrengst van de 6 laag CH_4-producerende koeien wijkt minder van het gemiddelde (20,0 g/kg droge stof opname; zie Tabel 4) af dan de gemiddelde CH_4 opbrengst van de 6 hoog CH_4-producerende koeien, namelijk 2,8 en 4,0 g/kg droge stof opname respectievelijk. De geselecteerde dieren lijken ook van elkaar te verschillen wat betreft de CH_4 tot CO_2 ratio, welke 3,21 ± 0,189 is voor de 6 laag CH_4-producerende koeien en 3,70 ± 0,158 voor de 6 hoog CH_4-producerende koeien (Tabel 5). Met andere woorden, wanneer gecorrigeerd wordt voor verschillen in CO_2 productie, is het verschil tussen de 6 hoog CH_4-producerende koeien en de 6 laag CH_4-producerende koeien nog groter.

De geselecteerde koeien, welke de *Laag methaan* en *Hoog methaan* groep vormen, verschillen 6,8 g CH_4 / kg droge stof voeropname. Dat is een aanzienlijk verschil (+ 39,5% voor *Hoog methaan* t.o.v. *Laag methaan*). Deze 12 geselecteerde koeien zijn laag dan wel hoog CH_4 producerende koeien, maar zijn geen uitbijters t.o.v. de gemeten CH_4 opbrengst (g/kg droge stof opname) van alle koeien (n=188). Dit is weergegeven in Figuur 2. Daarnaast hebben we de interquartile range (IQR) methode toegepast om uitbijters te bepalen. Bij deze IQR methode worden alle waarden kleiner dan Q1 – (1,5 × IQR) en alle waarden groter dan Q3 + (1,5 × IQR) als uitbijters beschouwd. In onze dataset geldt: Q1 = 18,6, Q3 = 21,2 (beiden zichtbaar in Figuur 2) en IQR = 2,6, allemaal uitgedrukt in g CH_4 / kg droge stof opname. Waarden kleiner dan 14,7 of groter dan 25,2 g CH_4 / kg droge stof opname worden beschouwd als uitbijter. Alleen koe 2922, een hoog CH_4-producerende koe (25,3 g/kg droge stof opname) zit op de grens en zou officieel als uitbijter beschouwd kunnen worden. Omdat deze koe op de grens zit wat betreft CH_4 emissie, is besloten haar toch mee te nemen in de selectie.

Tabel 5 *Geselecteerde koeien om als donordieren te dienen in het vervolg inoculatie onderzoek met de gemiddelde methaan yield (g/kg droge stof opname).*

Koe	Groep	Pariteit	Dagen in melk bij start	Lichaamsgewicht (kg)	Lichaams-conditiescore	Droge stof opname (kg/d)	CH_4 opbrengst (g/kg droge stof opname)	CH_4 tot CO_2 ratio (× 100)
2386	Laag methaan	2	50	628	2,88	27,1	16,5	3,13
663	Laag methaan	4	82	673	2,71	26,6	16,8	3,19
1119	Laag methaan	4	48	730	3,21	28,4	16,8	3,49
2174	Laag methaan	2	79	674	2,98	27,6	17,1	3,18
1237	Laag methaan	4	55	682	2,73	24,3	17,7	2,93
1920	Laag methaan	3	45	673	2,92	25,9	18,1	3,32
	Gemiddelde	*3*	*60*	*677*	*2,91*	*26,6*	*17,2*	*3,21*
	Standaardafwijking	*1,0*	*16,4*	*32,4*	*0,183*	*1,44*	*0,62*	*0,189*
1858	Hoog methaan	3	67	688	3,22	23,9	22,4	3,74
1567	Hoog methaan	3	106	828	3,41	30,0	22,5	3,81
2941	Hoog methaan	1	46	525	3,11	18,6	24,4	3,60
749	Hoog methaan	4	29	793	3,36	27,0	24,5	3,91
706	Hoog methaan	5	33	731	3,53	22,0	24,9	3,46
2922	Hoog methaan	1	62	527	3,18	17,8	25,3	3,68
	Gemiddelde	*3*	*57*	*682*	*3,30*	*23,2*	*24,0*	*3,70*
	Standaardafwijking	*1,6*	*28,3*	*130,5*	*0,158*	*4,77*	*1,25*	*0,158*



Figuur 2 *Boxplot van de gemeten methaan opbrengst (g/kg droge stof opname) van alle HF koeien (n=188).*

Er bestaat een relatie tussen CH_4 productie en lactatiestadium (Garnsworthy et al., 2012; Koning et al., 2020), waarbij de CH_4 productie sterk stijgt gedurende de eerste 10 weken van de lactatie om vervolgens relatief langzaam te dalen tot het einde van de lactatie. Deze relatie wordt voornamelijk veroorzaakt door variatie in droge stof opname en variatie in de energiebalans van het dier tijdens de lactatie. Vroeg lactatie koeien bevinden zich over het algemeen in een negatieve energiebalans, die optreedt wanneer de energiebehoefte voor melkproductie niet volledig gedekt kan worden door de voeropname en de koeien als gevolg lichaamsreserves gaan mobiliseren (van Knegsel et al., 2007). Door de relatief lage voeropname, hebben koeien in vroeg lactatie vaak een relatief lage CH_4 productie, maar een hoge CH_4 opbrengst (g/kg droge stof opname). Het effect van lactatiestadium verklaart niet het verschil in CH_4 emissie tussen de 6 laag en 6 hoog CH_4-producerende koeien omdat rekening is gehouden met lactatie stadium bij de selectie van de laag en hoog CH_4-producerende koeien (Tabel 5).

Er bestaat ook een relatie tussen CH_4 productie en pariteit (Garnsworthy et al., 2012; Koning et al., 2020), waarbij de CH_4 productie doorgaans toeneemt van 1ste lactatie naar 2de lactatie en vervolgens stabiel blijft vanaf de 3de lactatie. Deze relatie wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een toename in lichaamsgrootte, pensvolume en voeropnamecapaciteit met leeftijd (en dus pariteit). De pariteit van de melkkoeien uit de *Laag methaan* groep varieert tussen de 2 en de 4, terwijl de pariteit van de melkkoeien uit de *Hoog methaan* groep varieert tussen de 1 en 5. Gemiddelde gezien is de pariteit tussen beide groepen gelijk (Tabel 5), hoewel de koeien van de koeien uit de *Laag methaan* groep een lager lichaamsgewicht en lichaamsconditiescore hebben en juist een hogere totale droge stof opname (Tabel 5) t.o.v. de koeien uit de *Hoog methaan* groep. Een hogere voeropname resulteert in dat er meer substraat in de pens beschikbaar is voor fermentatie en vervolgens CH_4 productie (Mills et al., 2003). Doorgaans gaat een hogere voeropname gepaard met een kortere retentietijd van het voer in de pens vanwege een toename in de passagesnelheid. Dit heeft juist weer een verminderde vertering van het voer in de pens en een lagere CH_4 productie tot gevolg (Moe en Tyrrell, 1979), zeker wanneer CH_4 emissie uitgedrukt wordt t.o.v. voeropname (d.w.z. CH_4 opbrengst in g/kg droge stof).

Verschillende studies hebben correlaties gevonden tussen karakteristieken van het microbioom in de pens en CH_4 productie bij rundvee (Wallace et al., 2015; Roehe et al., 2016; Danielsson et al., 2017; Difford et al., 2018; Ramayo-Caldas et al., 2019; Wallace et al., 2019). Daarnaast geeft Weimer (2015) aan dat het microbioom van de pens binnen een individuele koe zeer persistent is. Roques et al. (in press) heeft aangetoond dat op basis van de compositie van het microbioom in de pens van NL melkvee duidelijke laag en hoog CH_4-producerende groepen geïdentificeerd konden worden. Het is dan ook zeer aannemelijk dat de koeien in de *Laag methaan* groep een andere samenstelling van het microbioom in de pens hebben dan de koeien in de *Hoog methaan* groep. Dit maakt de geselecteerde koeien geschikt als donordieren voor pensvloeistof waarbij kalveren in het vroege leven geïnoculeerd worden met dit laag CH_4-vormende dan wel hoog CH_4-vormende pensvloeistof.

4 Conclusies

Van de 188 doorgemeten melkkoeien, zijn 12 koeien geselecteerd op basis van de hoeveelheid CH_4 die zij produceren per kg droge stof opname. De 6 laag CH_4-producerende koeien hebben een gemiddelde CH_4 opbrengst van 17,2 ± 0,62 g/kg droge stof opname en de 6 hoog CH_4-producerende koeien hebben een gemiddelde CH_4 opbrengst van 24,0 ± 1,25 g/kg droge stof opname. Het is aannemelijk dat de laag CH_4-producerende koeien een andere samenstelling van het microbioom in de pens hebben dan de laag CH_4-producerende koeien. Dit maakt de geselecteerde koeien geschikt als donordieren voor pensvloeistof in vervolgonderzoek, waarbij kalveren in het vroege leven geïnoculeerd worden met dit laag CH_4-vormende dan wel hoog CH_4-vormende pensvloeistof.

Literatuur

Abrahamse, P. A., J. Dijkstra, B. Vlaeminck, and S. Tamminga. 2008. Frequent allocation of rotationally grazed dairy cows changes grazing behavior and improves productivity. J. Dairy Sci. 91:2033-2045.

Appuhamy, J. A. D. R. N., J. France, and E. Kebreab. 2016. Models for predicting enteric methane emissions from dairy cows in North America, Europe, and Australia and New Zealand. Glob. Chang. Biol. 22:3039–3056.

Brask, M., P. Lund, A. L. F. Hellwing, M. Poulsen, and M. R. Weisbjerg. 2013. Enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in dairy cows fed different forages with and without rapeseed fat supplementation. Anim. Feed Sci. Technol. 184:67-79.

Bu, D., X. Zhang, L. Ma, T. Park, L. Wang, M. Wang, J. Xu, and Z. Yu. 2020. Repeated inoculation of young calves with rumen microbiota does not significantly modulate the rumen prokaryotic microbiota consistently but decreases diarrhea. Front. Microbiol. 11:1403.

Cersosimo, L. M., W. Radloff, and G.I. Zanton. 2019. Microbial inoculum composition and pre-weaned dairy calf age alter the developing rumen microbial environment. Front. Microbiol. 10:1651.

CVB (Centraal Veevoederbureau). 2016. Chemische Samenstellingen en Nutritionele Waarden van Voedermiddelen. CVB.

Danielsson, R., J. Dicksved, L. Sun, H. Gonda, B. Müller, A. Schnürer, and J. Bertilsson. 2017. Methane production in dairy cows correlates with rumen methanogenic and bacterial community structure. Front. Microbiol. 8:226.

Difford, G. F., D. R. Plichta, P. Løvendahl, J. Lassen, S. J. Noel, O. Højberg, A. D. G. Wright, Z. Zu, L. Kristensen, H. B. Nielsen, B. Guldbrandtsen, and G. Sahana. 2018. Host genetics and the rumen microbiome jointly associate with methane emissions in dairy cows. PLoS Genet 14:e1007580.

Garnsworthy P. C., J. Craigon, J. H. Hernandez-Medrano, and N. Saunders. 2012. Variation among individual dairy cows in methane measurements made on farm during milking. J. Dairy Sci. 95:3181-3189.

Grossman, M., and W. J. Koops. 1988. Multiphasic analysis of lactation curves in dairy cattle. J. Dairy Sci. 71:1598-1608.

International Organization for Standardization. 1998. ISO 9831:1998. Animal feedstuffs, animal products, and feces or urine - Determination of gross calorific values–Bomb calorimeter method. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. 2004. Milk - Determination of urea content - Enzymatic method using difference in pH (reference method). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. 2005. ISO 5983:2005. Animal feeding stuffs. Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content–Part 1: Kjeldahl method. International Standards Organization, Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. 2013. ISO 9622:2013. Milk and liquid milk products. Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. International Standards Organization, Geneva, Switzerland.

Klop, G., B. Hatew, A. Bannink, and J. Dijkstra. 2016. Feeding nitrate and docosahexaenoic acid affects enteric methane production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 99:1161-1172.

Koning, L., J. van Riel, and L. Šebek. 2020. Enteric methane emission of the Dutch dairy herd : Average and variation of enteric methane emission among the Dutch dairy herd. Wageningen Livestock Research, Report 1267.

Meale, S. J., M. Popova, C. Saro, C. Martin, A. Bernard, M. Lagree, D. R. Yáñez-Ruiz, H. Boudra, S. Duval, and D. P. Morgavi. 2021. Early life dietary intervention in dairy calves results in a long-term reduction in methane emissions. Sci. Rep. 11:3003.

Mills, J. A. N., E. Kebreab, C. M. Yates, L. A. Crompton, S. B. Cammell, M. S. Dhanoa, R. E. Agnew, and J. France. 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. J. Anim. Sci. 81:3141-3150.

Moe, P. W., and H. F. Tyrrell. 1979. Methane production in dairy cows. J. Dairy Sci. 62:1583-1586

Morgavi, D. P., and M. Popova. 2020. Colonization and establishment of the rumen microbiota – opportunities to influence productivity and methane emissions. In: McSweeney, C. S. and R. I. Mackie (eds.). Improving rumen function. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK.

Ramayo-Caldas, Y., L. Zingaretti, M. Popova, J. Estellé, A. Bernard, N. Pons, P. Bellot, N. Mach, A. Rau, H. Roume, M. Perez-Encisco, P. Faverdin, N. Edouard, D. Ehrlich, D. P. Morgavi, and G. Renand. 2019. Identification of rumen microbial biomarkers linked to methane emission in Holstein dairy cows. J Anim Breed Genet. 137:49-59.

Roehe, R., R. J. Dewhurst, C. A. Duthie, J. A. Rooke, N. McKain, D. W. Ross, J. J. Hyslop, A. Waterhouse, T. C. Freeman, M. Watson, and R. J. Wallace. 206. 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:e1005846.

Šebek, L. B. and C. van Bruggen. 2021. Excretieforfaits melkvee; Actualisatie 2021. Wageningen Livestock Research, Openbaar Rapport 1330.

van Gastelen, S., J. Dijkstra, J. M. L. Heck, M. Kindermann, A. Klop, R. de Mol, D. Rijnders, N. Walker, and A. Bannink. 2022. Methane mitigation potential of 3-nitrooxypropanol in lactating cows is influenced by basal diet composition. J. Dairy Sci. 105:4064-4082.

van Knegsel, A. T. M., H. van den Brand, J. Dijkstra, W. M. van Straalen, M. J. W. Heetkamp, S. Tamminga, and B. Kemp. 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. J. Dairy Sci. 90:1467-1476.

Wallace, R. J., J. A. Rooke, N. McKain, C. A. Duthie, J. J. Hyslop, D. W. Ross, A. Waterhouse, M. Watson, and R. Roehe. 2015. The rumen microbial metagenome associated with high methane production in cattle. BMC Genomics 16:839.

Wallace, R. J., G. Sasson, P. C. Garnsworthy, I. Tapio, E. Gregson, P. Bani, P. Huhtanen, A. R. Bayat, F. Strozzi, F. Biscarini, 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. Kopečny, 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, eaav8391.

Weimer, P. J. 2015. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. Front. Microbiol. 6:296.

Zimmerman, P., S. Zimmerman, S. Utsumi, and D. Beede. 2011. Development of a user friendly online system to quantitatively measure metabolic gas fluxes from ruminants. J. Dairy Sci. 94 (ESuppl.1):760.

Bijlage 1 Weekgemiddelde methaan opbrengst (g/kg droge stof opname) per koe

Bijlage 1 *De methaan emissie (in g/d, g/kg droge stof opname, g/kg melk en g/kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk) per koe.*

	Methaan					
Koe	Productie (g/d)	Opbrengst (g/kg droge stof opname)[1]	Intensiteit (g/kg melk)	Intensiteit (g/kg vet- en eiwit-gecorrigeerde melk)	Geselecteerd[2]	Hoog/Laag methaan[3]
98	433	14,9	11,4	10,6	Nee	
2845	349	15,7	10,5	10,6	Nee	
2386	446	16,5	11,9	11,4	Ja	Laag
1218	466	16,5	17,5	12,9	Nee	
464	496	16,7	12,9	11,9	Nee	
663	445	16,8	10,0	10,4	Ja	Laag
8144	428	16,8	15,1	13,6	Nee	
1119	478	16,8	10,6	10,5	Ja	Laag
2283	450	16,8	10,1	10,1	Nee	
1924	433	16,9	12,2	11,2	Nee	
2410	422	16,9	12,1	10,4	Nee	
2174	472	17,1	12,2	11,3	Ja	Laag
1544	477	17,2	13,2	12,1	Nee	
2849	394	17,2	12,7	13,2	Nee	
2435	420	17,2	11,6	11,3	Nee	
821	483	17,4	11,7	11,3	Nee	
1237	430	17,7	13,7	12,5	Ja	Laag
863	473	17,8	12,3	11,9	Nee	
436	419	17,8	15,8	14,3	Nee	
7052	403	17,8	14,9	14,7	Nee	
678	514	17,9	12,7	12,4	Nee	
738	454	18,0	18,6	16,0	Nee	
2437	417	18,0	13,5	12,2	Nee	
1192	482	18,0	12,5	11,9	Nee	
2443	426	18,1	10,5	10,1	Nee	
1920	470	18,1	12,7	11,3	Ja	Laag
1731	475	18,1	11,8	11,9	Nee	
1697	486	18,2	11,4	11,5	Nee	
1620	467	18,2	16,3	14,8	Nee	
1087	494	18,2	11,4	12,5	Nee	
2801	391	18,3	11,3	11,4	Nee	
8172	510	18,3	18,1	16,5	Nee	
2612	369	18,3	12,8	12,8	Nee	
1693	494	18,3	11,1	11,0	Nee	
2472	416	18,3	11,6	11,4	Nee	
1565	489	18,3	14,8	12,8	Nee	

750	475	18,4	14,4	13,9	Nee
1147	553	18,4	12,0	11,6	Nee
2949	350	18,4	13,9	13,2	Nee
2417	434	18,4	12,2	12,1	Nee
748	516	18,4	10,6	10,4	Nee
2815	395	18,4	11,8	11,7	Nee
1721	527	18,5	11,7	10,9	Nee
1607	495	18,5	15,0	14,0	Nee
7743	483	18,6	14,7	13,7	Nee
2373	457	18,6	12,8	12,3	Nee
1860	479	18,6	12,8	11,4	Nee
2355	456	18,6	16,6	14,9	Nee
1613	461	18,7	16,0	14,4	Nee
1648	505	18,8	13,7	13,1	Nee
605	481	18,8	13,9	13,0	Nee
1681	510	18,9	13,1	12,9	Nee
1756	490	18,9	11,3	11,0	Nee
1118	479	18,9	11,2	10,2	Nee
2466	429	18,9	10,1	9,4	Nee
907	517	18,9	14,0	12,9	Nee
546	466	18,9	12,0	10,9	Nee
2492	401	18,9	12,5	11,7	Nee
1818	551	19,0	12,5	11,9	Nee
1320	468	19,0	11,5	11,5	Nee
1108	505	19,0	12,1	12,9	Nee
1128	466	19,0	14,4	12,1	Nee
1968	461	19,1	12,2	11,6	Nee
1084	543	19,1	11,2	,	Nee
2471	404	19,2	10,2	9,2	Nee
1815	480	19,2	14,8	13,0	Nee
2725	394	19,2	13,1	19,2	Nee
2696	437	19,3	17,2	13,6	Nee
2409	464	19,3	13,4	12,5	Nee
2324	470	19,3	18,3	15,6	Nee
652	548	19,3	12,4	12,2	Nee
2353	552	19,4	12,8	12,2	Nee
2776	363	19,4	14,3	13,3	Nee
2376	476	19,4	11,6	10,9	Nee
1211	604	19,5	13,1	13,2	Nee
1952	406	19,5	12,2	11,7	Nee
2908	453	19,5	13,7	13,0	Nee
1163	513	19,5	14,9	14,3	Nee
419	541	19,5	12,1	13,2	Nee
7203	534	19,5	15,1	13,5	Nee
830	513	19,6	13,7	12,6	Nee
1364	534	19,6	13,9	13,8	Nee
1157	485	19,7	19,1	17,2	Nee
700	510	19,7	11,1	10,6	Nee
2569	401	19,7	16,1	15,2	Nee
2963	425	19,7	14,0	14,3	Nee
2616	381	19,7	16,0	13,9	Nee

2854	427	19,7	15,1	14,6	Nee
1788	442	19,7	13,2	11,1	Nee
2249	508	19,8	16,1	14,7	Nee
2209	476	19,8	17,0	15,6	Nee
826	568	19,8	14,9	14,4	Nee
1094	492	19,8	13,2	12,1	Nee
1291	520	19,8	16,9	14,0	Nee
8165	562	19,8	15,3	14,0	Nee
553	540	19,8	12,4	11,4	Nee
1593	559	19,8	16,7	15,7	Nee
1495	550	19,9	12,3	12,1	Nee
2842	419	19,9	13,0	12,9	Nee
2155	480	19,9	9,8	9,9	Nee
629	505	20,0	11,8	11,8	Nee
1205	536	20,0	16,9	14,3	Nee
506	465	20,0	12,7	12,4	Nee
2284	485	20,1	17,4	14,7	Nee
1612	546	20,1	12,6	12,1	Nee
219	469	20,2	22,0	20,0	Nee
2467	490	20,2	13,8	10,8	Nee
473	589	20,2	14,6	13,3	Nee
1533	560	20,2	18,4	15,7	Nee
2808	437	20,3	14,8	13,1	Nee
2079	524	20,3	14,0	14,3	Nee
465	539	20,3	12,2	12,2	Nee
2465	479	20,3	12,8	12,8	Nee
1714	478	20,3	15,6	14,2	Nee
2838	385	20,3	12,7	11,9	Nee
1290	483	20,3	12,6	12,0	Nee
673	521	20,3	15,8	14,4	Nee
1497	595	20,4	14,7	13,2	Nee
93	536	20,4	14,1	12,7	Nee
2923	419	20,4	14,4	14,8	Nee
8150	554	20,4	10,6	11,2	Nee
592	550	20,5	13,2	12,2	Nee
1436	489	20,5	11,7	11,5	Nee
1037	533	20,5	12,1	11,7	Nee
712	541	20,5	16,4	13,2	Nee
1632	519	20,5	13,0	13,0	Nee
1091	547	20,6	18,1	15,8	Nee
159	591	20,6	11,8	10,7	Nee
2033	456	20,6	17,6	15,5	Nee
1796	494	20,7	16,2	14,1	Nee
2160	550	20,7	13,3	13,0	Nee
1448	552	20,7	18,9	16,3	Nee
1136	473	20,8	16,8	15,0	Nee
2179	499	20,8	16,5	13,6	Nee
1670	548	20,9	12,7	12,6	Nee
2828	459	20,9	16,4	15,5	Nee
1164	461	20,9	12,3	10,6	Nee
664	466	21,0	11,4	11,7	Nee

1623	474	21,1	14,8	13,0	Nee	
2248	481	21,1	19,6	18,5	Nee	
172	478	21,2	18,7	18,2	Nee	
2431	465	21,3	16,7	15,6	Nee	
2192	495	21,5	12,7	11,9	Nee	
1369	527	21,6	22,2	18,8	Nee	
2430	535	21,6	19,0	16,1	Nee	
2481	505	21,7	15,0	14,7	Nee	
2870	461	21,7	14,9	15,0	Nee	
2760	436	21,7	17,7	15,9	Nee	
2211	499	21,7	13,8	12,1	Nee	
2877	473	21,8	15,3	14,7	Nee	
838	526	21,9	21,7	17,5	Nee	
2647	505	21,9	15,4	15,3	Nee	
1873	623	21,9	15,0	14,8	Nee	
2841	439	21,9	17,9	16,1	Nee	
1292	550	21,9	16,6	15,4	Nee	
1597	578	22,0	19,1	15,7	Nee	
772	563	22,1	15,0	15,0	Nee	
495	597	22,2	17,5	14,9	Nee	
1117	551	22,2	12,4	12,3	Nee	
2752	437	22,2	13,7	13,2	Nee	
7966	596	22,2	13,8	13,3	Nee	
1853	594	22,2	14,0	12,6	Nee	
665	532	22,2	19,5	17,0	Nee	
1561	640	22,2	15,7	14,6	Nee	
2925	414	22,3	14,7	14,7	Nee	
1858	534	22,4	17,2	15,1	Ja	Hoog
498	612	22,4	15,8	14,2	Nee	
1567	677	22,5	19,1	15,4	Ja	Hoog
628	604	22,6	12,2	13,2	Nee	
2326	553	22,6	13,4	12,9	Nee	
7387	645	22,6	15,8	14,5	Nee	
2448	521	22,7	14,3	12,0	Nee	
1979	539	22,7	13,0	12,2	Nee	
7884	541	22,7	11,4	11,7	Nee	
1832	610	22,8	14,9	14,1	Nee	
2969	452	22,9	17,8	16,8	Nee	
1571	533	23,2	22,7	16,6	Nee	
2856	489	23,9	17,1	15,1	Nee	
3001	492	24,1	16,0	14,8	Nee	
2941	455	24,4	15,0	14,7	Ja	Hoog
749	661	24,5	14,1	13,6	Ja	Hoog
2623	456	24,7	20,4	17,3	Nee	
1946	556	24,7	17,8	16,7	Nee	
1740	604	24,7	19,3	17,6	Nee	
706	546	24,9	18,5	15,7	Ja	Hoog
1077	634	24,9	16,6	15,9	Nee	
2922	450	25,3	16,7	15,7	Ja	Hoog
2915	510	25,7	17,5	17,8	Nee	

[1] Methaan opbrengst is gebruikt als variabele om de koeien te ranken van laag naar hoog.

[2] Er zijn in totaal 12 koeien geselecteerd om als donordieren te dienen in het vervolg inoculatie onderzoek. Selectie is gebaseerd op methaan opbrengst (g/kg droge stof opname), alsmede dracht, lactatiestadium en karakter (eenvoud voor frequente pensvloeistofmonstername).

[3] De geselecteerde koeien zijn geclassificeerd als lage methaan-emitters of als hoge methaan-emitters.

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.