

Abschlussbericht für das Projekt ,RumenStability‘

Aktenzeichen: 315-06.01-2814ERA04A



I. Kurze Darstellung zu

1. Aufgabenstellung

Es ist seit mehreren Jahren bzw. Jahrzehnten bekannt, dass die beiden Hauptfaktoren der Beeinflussung der Methanproduktion eines Wiederkäuers die Menge an aufgenommenen Futter und die Futterzusammensetzung sind. Dennoch beobachtet man zwischen Milchkühen mit gleicher Futteraufnahmemenge, Milchleistung und Fütterung gewisse Unterschiede in der Methanproduktion. Diese Unterschiede könnten durch eine unterschiedliche Physiologie und Anatomie (z.B. Passagerate, Pansengröße oder Stress) oder eine unterschiedliche Zusammensetzung des Pansenmikrobioms der Tiere begründet sein. Diese Hypothesen sollten im FACCE-JPI Projekt „Understanding the development and control of stability in the rumen microbiome as a basis for new strategies to reduce methanogenesis (RumenStability)“ geprüft werden.

Das Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN) Dummerstorf war von Oktober 2014 bis Januar 2019 mit kurzer Unterbrechung an der Projektbearbeitung an den Arbeitspaketen 1, 2, 4 und 9 beteiligt. Aufgabe des FBN war es der Frage nachzugehen, ob (1) die tierindividuelle Methanproduktion, die Passagerate und das Pansenmikrobiom bei Kühen in einem Zeitraum von der Späträchtigkeit bis zur nachfolgenden Spätlaktation persistiert, und (2) ob die Milchfütterungsintensität bei Kälbern die Methanproduktion, die Passagerate, die Ausbildung des Pansenmikrobioms beeinflusst. Zur Beantwortung dieser Fragen sollten 2 tierexperimentelle Studien durchgeführt werden.

In einer ersten Studie sollten trächtige Färsen im Zeitraum von 5 Wochen vor der theoretischen Kalbung bis zur Kalbung mit einer typischen Vorbereitungsfütterung versorgt werden. Nach der Kalbung sollten dann alle Tiere über den gesamten Laktationsverlauf eine Leistungsgerechte Laktationsration erhalten. Die Futteraufnahme, die Änderung des body condition scores (BCS), das Körpergewicht, die Milchleistung, und die Milchinhaltstoffe sollten täglich bzw. wöchentlich erfasst werden. Zudem war aus repetitiv zu entnehmenden Blutproben der metabolische Status der Tiere zu beschreiben. Die Methanproduktion, die Passagerate und die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Pansen waren in der 5. Woche vor, als auch in der 5., 13. und 42. Woche nach dem Kalben zu bestimmen. Ferner

sollten aus den entnommenen Pansensaftproben die mikrobielle Zusammensetzung in Kollaboration mit den Projektpartnern ermittelt werden.

In einer zweiten Studie sollten neugeborene Kälber bis zur 13. Lebenswoche entweder mit 10% oder mit 20% des Körpergewichts mit Milchaustauscher gefüttert werden, wobei den Tieren ad libitum Zugang zu Konzentratfutter und Heu eingeräumt wurde. Je die Hälfte der Tiere einer Fütterungsgruppe sollten in der 3. Lebenswoche eine Pansenfistel erhalten. Nach der Entwöhnung vom Milchaustauscher in der 13. Lebenswoche waren beide Gruppen mit einer Totale Mischration ad libitum zu füttern. Die Methanproduktion, die Passagerate und die kurzkettingen Fettsäurekonzentrationen im Pansen waren 2 x während und 2x nach der Milchaustauschertränkeperiode zu bestimmen. Die Festfutteraufnahme war täglich und das Körpergewicht wöchentlich zu bestimmen. Ferner sollten aus den entnommenen Pansensaftproben bzw. aus dem Pansenzottenbiopsien das Mikrobiom analysiert werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Institut für Ernährungsphysiologie „Oskar Kellner“ am Leibniz-Institut für Nutztierbiologie, Dummerstorf besitzt bereits seit Jahrzehnten Respirationskammern für Großtiere und entsprechende Erfahrung in der quantitativen Messung der Methanproduktion bei Rindern.

Für die Durchführung der 1. tierexperimentellen Studie standen 20 Färsen zur Verfügung. Die Untersuchungen wurden in der Experimentalanlage Rind (EAR) und in den Respirationsanlagen des FBNs durchgeführt. Die EAR besteht aus einem Laufstall mit 60 Liegeboxen und Einzelfressplätzen sowie einem Abkalbestall mit Tiefstreu für bis zu 8 Kühe mit elektronischer Futteraufnahmeerfassung der Firma Insentec. Diese Anlage erlaubt es, die tierindividuelle tägliche Futteraufnahme jeder Kuh zu erfassen. Das Grobfutter für die Kühe kauft das FBN vom Gut Dummerstorf, welches das Futter produziert. Krafffutter wird von verschiedenen regionalen Herstellern käuflich erworben. Die Rationskomponenten werden als Totale Mischration (TMR) bestehend aus Gras- und Maissilage, Heu, Stroh, Mineralfutter und Konzentrat verfüttert. Sowohl im Laufstall als auch im Abkalbestall befinden sich Fanggitter zur Fixierung der Kühe für orale Pansensaft- bzw. Blutentnahmen. Die EAR ist ferner mit einem 2x4 side-by-side Melkstand der Firma DeLaval ausgestattet. Die Milchleistung wird pro Gemelk (2 Mal täglich) erfasst und zu einem Tageswert aufsummiert. Beim Rücktrieb der Tiere aus dem Melkstand wird mittels einer Laufwaage (DeLaval) das Körpergewicht erfasst. Bei Färsen bzw. Trockenstehern wird das Körpergewicht durch manuelle Wägung erhoben. Bei laktierenden Kühen werden wöchentlich anhand von Poolproben aus einem Abend- und dem nachfolgenden Morgengemelk die Milchinhaltsstoffe durch den Landeskontrollverband (LKV-MV) in Güstrow analysiert. Der Herdenmanager und der FBN-Institutstierarzt erfassen Krankheits-, Behandlungs-, Besamungs- und

Abkalbedaten und integrieren diese neben den Daten zur Milchleistung und Milchezusammensetzung in einem Softwareprogramm.

Für die Durchführung der 2. tierexperimentellen Studie stand ab September 2016 für die Haltung der Kälber der Jungrinderstall am FBN zur Verfügung. Darin ist die Haltung der Tiere in Einzelboxen mit Einstreu möglich. Die Kolostrum-Tränke erfolgt aus Eimern mit Nuckeln, die Milchaustauschertränke über ein Automatenystem ("Kälbermama Lifestart", Urban GmbH & Co. KG, Hude/Wüsting). Die Fütterung von Starterfutter und Heu erfolgt manuell und deren Aufnahme durch die Tiere durch Differenzwägung.

Die Analyse der Futtermittel, die im Kuh- als auch im Kälbersuch verfüttert wurden, erfolgte durch die Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA) in Rostock.

Für die Bestimmung der tierindividuellen Methanproduktion wurden die Tiere (Kühe und Kälber) auf einen Anhänger verladen und in das Tiertechnikum des FBN transportiert. Im Tiertechnikum befinden sich 4 Respirationskammern für Großtiere. In jeder der Kammern wird tierindividuell die tägliche Futteraufnahme, Wasseraufnahme, Milchleistung, CH₄- und CO₂-Produktion sowie der O₂-Verbrauch bestimmt. Vor Einstallung der Tiere in die Respirationskammer und nach Ausstallung aus der Kammer werden die Tiere gewogen, um das mittlere Körpergewicht zu erfassen.

Zur Bestimmung der Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Pansensaft und im Blutplasma steht ein Gaschromatograph mit Flammenionisations (FI)-Detektor zur Verfügung. Die Extraktion der DNA aus den Pansensaftproben erfolgte unter Verwendung eines Extraktionskits (Quiagen).

Für die Analyse von diversen Plasma-Metaboliten (z.B. langkettige, unveresterte Fettsäuren, Ketonkörper, Glucose, Triglyceride) stand ein Abx Pentra 400-Analysator (Horiba, Kyoto, Japan) zur Verfügung. Die Analyse der Plasma Cholecystokin-Konzentration erfolgte unter Verwendung eines kommerziell erhältlichen RIA (Wizard 1470 Automatic Gamma Counter, Perkin Elmer, Waltham, USA).

Für die Bestimmung der Passagerate wurde den Tieren (Kühen und Kälbern) Titandioxid als unverdaulicher Marker zusammen mit Krafffutter (für Kühe) bzw. in Wasser suspendiert (für Kälber) vor der Methanmessung (s.u.) oral verabreicht. Anschließend erfolgte eine Greifkotprobensammlung. Die Titandioxidkonzentration in den Kotproben wurde laboranalytisch durch Aufschluss mit Schwefelsäure bestimmt, um aus der TiO₂-Ausscheidungsrate die mittlere Passagerate der Digesta zu berechnen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Während die anderen europäischen Projektpartner rechtzeitig mit der Bearbeitung des Projektes beginnen konnten, hat sich der Projektbeginn für den Deutschen Partner aufgrund des seinerzeit nicht bestätigten Bundeshaushaltes nach der Bundestagswahl 2013 um ca. 10 Monate verspätet. Durch diese Verzögerung kam es zu einigen Abweichungen vom eigentlich aufgestellten Zeitplan. Durch enge Abstimmung mit den beteiligten Projektpartnern, auch im Rahmen von Workshops in Clermont-Ferrand (Frankreich), Málaga (Spanien), Dublin (Irland) und Aberdeen (UK), konnte die Verzögerung z.T. wettgemacht werden.

Die Durchführung und Auswertung der Kuh-Studie fand innerhalb der ersten beiden Projektjahre statt und wurde von einer ersten projektfinanzierten Doktorandin begleitet. Durch Schwangerschaft- und Mutterschutzzeiten wurde dieser Projektteil zeitweilig nicht bearbeitet. Im 3. und 4. Projektjahr wurde die Studie an Kälbern durch eine zweite Doktorandin mit anteiliger Projektfinanzierung durchgeführt.

In der Kuh-Studie wurden trächtige Färsen in der 5. und 4. Woche vor der theoretischen Kalbung mit einer typischen Grassilage-basierten Fütterung (5,5 MJ NEL/kg TS) versorgt. Von der 3. Woche bis zur Kalbung erhielten die Tiere eine Maissilage-basierte TMR (6,9 - 7,1 MJ NEL/kg TS), die auch nach der Kalbung über den gesamten Laktationsverlauf verfüttert wurde. Die Futter- und Trockensubstanzaufnahme, Milchleistung und das Körpergewicht wurden täglich, der Body Condition Score (BCS), und die Milchinhaltsstoffe einmal wöchentlich erfasst. Im Zeitraum der 5 Wochen vor bis 12 Wochen nach dem Kalben wurden wöchentliche Blutproben entnommen. Eine weitere Blutentnahme erfolgte in der 42. Laktationswoche. Es wurde EDTA-Plasma gewonnen, um darin die Konzentrationen an nicht-veresterten freien Fettsäuren (NEFA), beta-Hydroxybutyrat (BHBA) und Acetat zu bestimmen. Ferner wurde zum Zeitpunkt der 5. Laktationswoche die Konzentration an Cholecystokinin (CCK) mittels ELISA gemessen. Retrospektiv wurden die 20 Tiere basierend auf der Plasma-NEFA-Konzentration in der 5. Laktationswoche in hoch- und niedrig fettmobilisierende Tiergruppen mit je n=10 Individuen eingeteilt. In der 5. Woche vor, als auch in der 5., 13. und 42. Woche nach dem Kalben wurden die Tiere aus der EAR in die Respirationsskammern transportiert und weiterhin ad libitum gefüttert, um die 24-stündige Methanproduktion, CO₂-Produktion und O₂-Verbrauch zu messen. Aus der CO₂-Produktion und dem O₂-Verbrauch in der Respirationsskammer wurden die Kohlenhydratoxidation und die Fettoxidation berechnet. Parallel dazu wurde die Passagerate und die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) im Pansensaft analysiert. Der pelletierte Teil des Zentrifugats wurde auf -80°C eingefroren. Nach Abschluss des Tierversuchs wurde die darin enthaltene mikrobielle DNA extrahiert und an den Projektpartner am University College Dublin, Irland, zur Analyse des Mikrobioms verschickt. Es wurden

dass durch eine intensive Milchfütterung sich der Gesamt-Immunglobulin-Satus von Kälbern verbessert, ob dabei auch der anti-Miroben-Imunglobulin-Status beeinflusst wird, war zu Projektbeginn unbekannt.

• *Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste,*

Zur Berechnung der Rationszusammensetzungen für den Kuh- und den Kälbersuch wurde das Softwareprogramm „Futter R“ der Fa. dsp Paretz verwendet. Die verwendete Fachliteratur ist den bislang erschienenen Publikationen zu entnehmen. Es wurden folgende Literaturdatenbanken zur Informationsgewinnung genutzt: a) Web of Science, b) NCBI.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

- 1) TEAGASC - AGRICULTURE AND FOOD DEVELOPMENT AUTHORITY, established in Oak Park, Carlow, Ireland, (Koordinator)
- (2) SRUC: Scotland's Rural College, having is main office at Peter Wilson Building, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh EH9 3JG United Kingdom
- (3) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, established in Profesor Albareda 1, 18008, Granada, Spain
- (4) University College Dublin – National University of Ireland, Dublin, established in Belfield, Dublin 4, Ireland
- (5) Ghent University, established in Sint-Pietersnieuwstraat 25, 9000 Gent, Belgium
- (6) Institut National de la Recherche Agronomique, established in 63122, St Genes Champanelle, France
- (7) The Own Capital of the Institute for Agricultural and Fisheries Research (OC ILVO), Van Gansberghelaan, 96/1, B-9820 Merelbeke, Belgium
- (8) AgResearch Ltd., established in 10 Bisley Road, Hamilton 3214, New Zealand
- (9) Aberystwyth University, established in Old College, King Street, Aberystwyth, Ceredigion SY23 2AX United Kingdom

II. Eingehende Darstellung

1. der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Mit der finanziellen Zuwendung wurde größtenteils das Entgelt zweier Doktorandinnen für je ca. 2 Jahre (teil)finanziert. Damit wurde den Doktorandinnen eine wissenschaftliche Ausbildung ermöglicht, die sie für die Erlangung des Doktorgrades Dr. med. vet. befähigt. Darüber hinaus bot die Kälberstudie einer Studentin der Agrarwissenschaft die Möglichkeit ihre Bachelor-Arbeit anzufertigen.

Entsprechend der beiden Teilprojekte wurden folgende Ergebnisse erarbeitet:

(1) **Methanproduktion, Passagerate und Pansenmikrobiom von Kühen im Zeitraum von der Spätträchtigkeit bis zur Spätlaktation:**

(a) *Methanproduktion, Passagerate und metabolische Charakteristika.* Basierend auf der Plasma-NEFA-Konzentration in der 5. Laktationswoche wurden 20 Kühe retrospektiv in hoch- und niedrig fettmobilisierende Tiergruppen mit je n=10 Individuen eingeteilt. Parallel zu den höheren Plasma-NEFA-Konzentrationen oxidierten hochmobilisierende Kühe in der Früh-laktation auch signifikant mehr Fett (Bielak et al., 2016, Sci Rep. 6:28135.). Über den gesamten Untersuchungszeitraum unterschieden sich die Tiergruppen aber nicht im Körpergewicht, im BCS, der energiekorrigierten Milchleistung (ECM) und der Trockenmasseaufnahme. Jedoch beobachteten wir eine signifikante Wechselwirkung (Gruppe x Zeit-Effekt) für die Rückenfettdicke und die Trockenmasseaufnahme. Während die beiden Gruppen sich nicht in der Plasmaketonkörperkonzentration unterschieden, wiesen hochmobilisierende Kühe geringere Plasmaacetatkonzentrationen zum Zeitpunkt der Früh-laktation (5. postpartale Woche) im Vergleich zu weniger mobilisierenden Kühen auf. Entsprechend fanden wir eine inverse lineare Beziehung zwischen der Plasma-NEFA und Plasma-Acetat-Konzentration. Die Methanproduktion stieg von der Spätträchtigkeit bis zur Spätlaktation in beiden Gruppen kontinuierlich an und auch die Methanausbeute steigt im Laktationsverlauf. Beide Tiergruppen besaßen zu jedem der Untersuchungszeitpunkte eine vergleichbare Methanproduktion und Methanproduktionsintensität (CH_4/ECM), allerdings wiesen hochmobilisierende Kühe geringere Methanausbeuten (CH_4/DMI bzw. CH_4/NDF) in der Früh-laktation, nicht jedoch zu anderen Zeitpunkten auf. Entsprechend bestand eine signifikante inverse Beziehung zwischen Methanausbeute (CH_4/DMI) und der Plasma-NEFA-Konzentration zum Zeitpunkt der Früh-laktation. Trotz der Unterschiede in der Methanausbeute zwischen den Gruppen fanden wir keine signifikanten Differenzen für die mittlere Passagerate durch den Pansen-Darm-Trakt. Dennoch war die Plasmacholecystokinin- (CCK-) konzentration in der hochmobilisierenden Gruppe zum Zeitpunkt der Früh-laktation geringer als in der Vergleichsgruppe. Eine intravenöse

Applikation von Cholecystokinin unterdrückt die Kontraktionen des Retikulums (Netzmagen) und die Pansenmotilität (Grovm et al., 1981, Kermani und Rezaiee, 1993). Es kann daher angenommen werden, dass die geringeren CCK-Konzentrationen der hochmobilisierenden Gruppe die Motilität des Pansens steigert und somit die ruminale Methanausbeute verringert, ohne jedoch die Gesamtpassagerate zu beeinflussen. Diese Hypothese muss aber durch weitere Studien untermauert werden.

(b) *Pansenmilieu und Pansenmikrobiom*. Da wir unter (a) zeigen konnten, dass die Methanausbeute von der Früh- zur Spätlaktation ansteigt, vermuteten wir, dass dieser Verlauf mit Änderungen der mikrobiellen Zusammensetzung und des Milieus im Pansen einhergeht. In 9 der 20 untersuchten Tiere konnten zu allen 3 Laktationszeitpunkten qualitativ ausreichend hohe DNA-reads festgestellt werden. In dieser Subkohorte fanden wir signifikante Unterschiede der bakteriellen und archaealen Gemeinschaftsstruktur (Lyons et al., 2018, J Dairy Sci. 101:5102-5114.). Weiterhin war das Verhältnis aus (Acetat + Butyrat) : Propionat signifikant größer in der Spät- im Vergleich zur Früh- Laktation. Zudem fanden wir eine signifikant höhere Propionatkonzentration in Kühen mit geringer Methanausbeute (CH_4/DMI) zum Zeitpunkt der Spätlaktation. Unterschiede in der bakteriellen und archaealen Gemeinschaftsstruktur zwischen Kühen mit divergenter Methanausbeute waren nicht festzustellen. Folgende bakteriellen Genus waren hauptsächlich festzustellen: *Prevotella*, *Succinlasticum*; *Treponema*, *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, und *Bifidobacterium*. Dennoch waren in Kühen mit hoher Methanausbeute die positiven Korrelationen zwischen diesen bakteriellen Genus und Acetat und Butyrat stärker als die Korrelationen zu Propionat. Diese Ergebnisse zeigen, dass sich das Pansenmikrobiom trotz nahezu gleichbleibenden Futters im Laktationsverlauf stark ändert. Es ist ferner zu vermuten, dass die unterschiedliche Methanausbeute von Kühen nicht unbedingt auf Menge an Archaeen zurückzuführen ist, sondern auch auf deren Aktivität (Shi et al., 2014) bzw. die unterschiedliche Bereitstellung von Substraten durch ruminale Bakterien.

(2) Einfluss der Milchfütterungsintensität bei Kälbern auf die Methanproduktion und dessen assoziierte Mechanismen

(a) *Methanproduktion, Passagerate und Pansenmilieu*.

Kälber, die 10 % ihres Körpergewichts Milchaustauscher erhielten, besaßen vor dem Absetzen eine signifikant höhere Festfutteraufnahme als Kälber, die 20 % ihres Körpergewichts Milchaustauscher zur Verfügung hatten. Nach dem Absetzen kehrte sich dieser Effekt um und die 20 %-Gruppe erreichte eine höhere Trockenmasseaufnahme. Diese Unterschiede fanden sich auch in der Methanproduktion: Vor dem Absetzen der Milchaustauscherfütterung war die tägliche Methanproduktion in der 10 %-Gruppe höher, und nach dem Absetzen in der 20 % Gruppe. Unterschiede in der Methanausbeute

(CH₄/DMI) waren nicht auszumachen, allerdings war die Methanproduktion pro kg Körpergewicht vor dem Absetzen der Milchaustauscherfütterung in der 10 %-Gruppe mehr als doppelt so groß wie in der 20 %-Gruppe. Dieser Effekt war auf durch die signifikant höheren Körpergewichte der 20 %-Gruppe, die auch einen höheren BCS, Brustumfang, eine höhere Rückenfettdicke, Rückenmuskeldicke, Körperlänge und -höhe besaß, zu erklären. Darüber hinaus war auch die Pansengröße als Anteil des Körpergewichts bzw. des Brustumfangs in der 20 %-Gruppe signifikant größer als in der 10 %-Gruppe. Auch stellten wir eine tendenziell höhere mittlere Verweilzeit der Digesta in der 20 %-Gruppe vor dem Absetzen der Milchaustauschertränke fest. Die Analyse des Pansenmilieus ergab, dass sich die Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat, Valerat, Caproat) als auch das C2/C3- bzw. das (C2*C4)/C3-Verhältnis bzw. die Laktat-Konzentration zwischen den beiden Fütterungsgruppen nicht unterschieden. Diese Ergebnisse haben sehr große Bedeutung für die Kälberaufzucht, denn durch eine hohe Intensität bzw. auch Dauer der Milch- bzw. Milchaustauscherfütterung lassen sich Methanemissionen pro kg erzeugten Produkts deutlich reduzieren, ohne das Pansenmilieu zu kompromittieren.

(b), Speichelkortisol, Plasmametabolite und -anti-Mikroben Immunglobuline, Wiederkauaktivitäten, Pansenmotilität und Pansenmikrobiom.

Mit diesen Untersuchungen sollte der Frage nachgegangen werden, ob neben der Festfutteraufnahmemenge weitere Faktoren für die höhere Methanproduktion der 10 %-Gruppe vor dem Absetzen der Milchaustauscherfütterung verantwortlich sein könnten. Während sich die Konzentrationen an Speichel-Kortisol, Plasma-Albumin, -Glucose, Harnstoff, -L-Laktat und NEFA zwischen den Fütterungsgruppen nicht unterschieden, war die beta-Hydroxybutyrat-Konzentration in der 10 %-Gruppe signifikant niedriger als in der 20 %-Gruppe. Die Analyse der anti-Mikroben Immunglobuline im Plasma ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen. Die Wiederkauzeiten nahmen mit zunehmendem Alter der Tiere zu, wobei die 10 %-Gruppe vor und die 20 %-Gruppe nach dem Absetzen längere Wiederkauzeiten aufwies. Die Wiederkauzeiten waren dabei proportional zur Festfutteraufnahme.

Bei den 7 pansenfistulierten Kälbern jeder Fütterungsgruppe wurde zu je 4 Zeitpunkten auch die Pansenmotilität mittels eines über die Fistel eingeführten Drucksensors gemessen. Ferner wurde über die Fistel Pansenepithelbiopsien entnommen um das epimurale Pansenmikrobiom zu analysieren. Während die Auswertung der Frequenz- und Amplitudenanalysen aus der Messung der Pansenmotilität noch andauern, werden die Mikrobiomanalysen voraussichtlich erst Ende des Jahres 2019 abgeschlossen sein. Zu diesen beiden Variablen kann daher noch kein abschließendes Ergebnis präsentiert werden.

2. der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Neben der Finanzierung zweier Doktorandinnen (Personalkosten) für je ca. 2 Jahre wurden Mittel für Dienstreisen des Projektleiters und der Doktorandinnen zur Teilnahme an den jährlichen Projektpartnertreffen und der Jahrestagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie verwendet. Ein weiterer Teilbetrag wurde für den Kauf von Kälbern, der Analyse der Futtermittel und Plasma- und Pansensaft-Metaboliten sowie von Publikationskosten verausgabt.

Tabelle 1: Durch den deutschen Projektpartner jährliche und gesamt- verausgabte Mittel im FACCE-JPI-Projekt „RumenStability“

Ausgaben							
HHJ	gesamt	812	831	835	843	846	850
2014	4.782,89 €	4.640,09 €	- €	- €	- €	142,80 €	- €
2015	30.219,50 €	26.359,11 €	- €	248,24 €	307,67 €	3.304,48 €	- €
2016	36.183,66 €	29.194,31 €	640,00 €	- €	771,96 €	5.577,39 €	- €
2017	39.797,45 €	28.474,90 €	3.060,00 €	3.491,46 €	2.223,31 €	2.139,61 €	408,17 €
2018	41.640,04 €	30.768,58 €	- €	4.259,01 €	5.562,25 €	1.050,20 €	- €
2019	4.018,00 €	2.481,96 €	- €	1.007,93 €	528,11 €	- €	- €
Summe	156.641,54 €	121.918,95 €	3.700,00 €	9.006,64 €	9.393,30 €	12.214,48 €	408,17 €

3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Nach Informationen des Umweltbundesamtes will die Bundesregierung die Treibhausgas-Emissionen bis zum Jahr 2020 um mindestens 40 % gegenüber 1990 senken. Rund 60 % der deutschen Methanemissionen stammen aus der Landwirtschaft, wobei der Hauptteil wiederum aus der Wiederkäuerhaltung entsteht. Die Höhe der Methanemissionen wird in erster Linie von der Menge aufgenommenen Futters bestimmt, d.h. geringe Futteraufnahmen führen zwar zu einer Reduzierung der Methanproduktion, führen bei der Milchkuh aber auch zu einer Verstärkung der negativen Energiebilanz in der Frühlaktation und zu einem erhöhten Risiko für Stoffwechselerkrankungen. Daher ist es wichtig, ein besseres Verständnis über die Variation der Methanproduktion zwischen einzelnen Kühen bei gleicher Fütterung zu erlangen sowie Fütterungsstrategien zu entwickeln, die die Methanproduktion senken ohne die Gesundheit des Tieres zu kompromittieren. Wir führten daher einen

Fütterungsversuch mit Milchkühen über den Zeitraum der ersten Laktation als auch einen Fütterungsversuch mit Kälbern durch. Die Betreuung der Versuche erfolgte hauptsächlich durch 2 Doktorandinnen und eine Bachelor-Studentin. Weitere versuchsbedingte Arbeiten wurden von FBN-Tier Technikern, -Labortechnikern, -Wissenschaftlern, -Bioinformatikern geleistet, die einen wesentlichen Beitrag zur notwendigen und erfolgreichen Projektarbeit lieferten. Wir konnten zeigen, dass bei Fütterung einer einheitlichen Ration über den gesamten Laktationsverlauf die Variation der Methanausbeute einer Kuh während der Früh-laktation am höchsten war, und dass zu diesem Zeitpunkt eine inverse Beziehung zwischen Methanausbeute dem Grad der Fettmobilisation besteht. Diese Erkenntnisse sollten bei einer etwaigen züchterischen Selektion auf niedrige Methanausbeuten berücksichtigt werden. Die Ergebnisse aus dem Fütterungsversuch mit Kälbern zeigen, dass durch eine höhere Gewähr an Milch- bzw. Milchaustauscher sich die Methanemissionen pro kg Körpergewicht – also erzeugten Produkts - deutlich reduzieren lässt. Eine derartige Fütterungsstrategie könnte sehr schnell in der Praxis umgesetzt werden.

4. des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Ein Verwertungsplan war nicht zu erstellen.

Wissenschaftlicher Erkenntnisgewinn: siehe auch unten genannte Publikationen. (1) Kühe mit einem hohen Grad der Fettmobilisierung wiesen in der Früh-laktation geringere Methanausbeuten (CH_4/DMI bzw. CH_4/NDF) im Vergleich zu Kühen mit geringer Fettmobilisierung auf. Da diese Unterschiede jedoch nicht zu anderen Zeitpunkten auftraten, müssen diese Befunde ggf. bei der Selektion nach weniger Methan-emittierenden Tieren berücksichtigt werden. (2) Die gewonnenen Ergebnisse haben sehr große Bedeutung für die Kälberaufzucht, denn durch eine hohe Intensität bzw. auch Dauer der Milch- bzw. Milchaustauscherfütterung lassen sich Methanemissionen pro kg erzeugten Produkts deutlich reduzieren, ohne das Pansenmilieu zu kompromittieren.

Wirtschaftlicher Mehrwert: Keine Schutzrechtsanmeldungen

Strukturelle Erkenntnisse: Im Rahmen der Bearbeitung des Projekts „RumenStability“ konnten internationale Kooperationen und Kontakte mit den beteiligten Projektpartnern hergestellt und ausgebaut werden. Diese Kontakte führten dazu, dass einige RumenStability-Projektpartner in einem weiteren europäischen Verbundprojekt, dem H2020 Infrastrukturprojekt „SmartCow“ ihre erfolgreiche Zusammenarbeit fortsetzten. Ferner konnte der deutsche Projektpartner seine Expertise zur Messung der Methanproduktion bei Großtieren in dem ERA-GAS-Projekt „CEDERS“ auf europäischer Ebene erneut einbringen.

5. des während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Die im Rahmen des Projektes gewonnenen Futter-, Methan-, BCS-, und Körpergewichtsdaten der Kühe wurden dem auch im Rahmen des FACCE-JPI-Programms geförderten „Global Network“-Projekt unter Leitung von Prof Alexander Nikolov Hristov (Pennsylvania State University) zur Verfügung gestellt. Damit haben wir dazu beigetragen, eine interkontinentale, weltweit größte Datenbank zur Methanproduktion von Rindern aufzubauen (Hristov et al., 2018 J Dairy Sci.101:6655-6674., Niu et al., 2018 Glob Chang Biol. 24:3368-3389.). Dem Zuwendungsempfänger ist nicht bekannt, dass bei anderen Stellen ein Fortschritt zur Bewertung des Einflusses wirtsphysiologischer Mechanismen auf die Methanproduktion bei Milchkühen erzielt wurde. Die Autoren des nach Projektende veröffentlichten Reviews (Celmmons et al., 2019), fassen zwar die bekannten Wechselwirkungen zwischen Wirt und Pansenmikrobiom bei Rindern umfassend zusammen und heben die Fütterung als Haupteinflussfaktor auf die Änderungen des Pansenmikrobioms hervor, verweisen aber auch darauf, dass das bislang keine anderen Faktoren bekannt sind, die das Pansenmikrobiom nachhaltig beeinflussen.

6. der erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 6.

a) Erfolgte Veröffentlichungen und Vorträge auf wissenschaftlichen Veranstaltungen

- Bielak A, Derno M, Hammon HM, Kuhla B. Effect of body fat mobilization in early lactation on methane production from first-lactating cows. EAAP Conference Warsaw, Wageningen Academic Publishers (ISSN 1382-6077), The Netherlands, 2015, 92.
- Bielak A, Derno M, Tuchscherer A, Susenbeth A, Kuhla B. Association between body fat mobilization in early lactation and methane emission from Holstein dairy cows. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 2016, 25: 147.
- Bielak A, Derno M, Tuchscherer A, Hammon HM, Susenbeth A, Kuhla B. Body fat mobilization in early lactation influences methane production of dairy cows. Sci Rep. 2016;6:28135.
- Lyons T, Bielak A, Doyle E, Kuhla B. 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. 2018;101(6):5102-5114.
- Niu M, Kebreab E, Hristov AN, Oh J, Arndt C, Bannink A, Bayat AR, Brito AF, Boland T, Casper D, Crompton LA, Dijkstra J, Eugène MA, Garnsworthy PC, Haque MN, Hellwing ALF, Huhtanen P, Kreuzer M, Kuhla B, Lund P, Madsen J, Martin C, McClelland SC, McGee M, Moate PJ, Muetzel S, Muñoz C, O'Kiely P, Peiren N, Reynolds CK, Schwarm A,

Shingfield KJ, Storlien TM, Weisbjerg MR, Yáñez-Ruiz DR, Yu Z. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. *Glob Chang Biol.* 2018;24(8):3368-3389.

-Hristov AN, Kebreab E, Niu M, Oh J, Bannink A, Bayat AR, Boland TM, Brito AF, Casper DP, Crompton LA, Dijkstra J, Eugène M, Garnsworthy PC, Haque N, Hellwing ALF, Huhtanen P, Kreuzer M, Kuhla B, Lund P, Madsen J, Martin C, Moate PJ, Muetzel S, Muñoz C, Peiren N, Powell JM, Reynolds CK, Schwarm A, Shingfield KJ, Storlien TM, Weisbjerg MR, Yáñez-Ruiz DR, Yu Z. Symposium review: Uncertainties in enteric methane inventories, measurement techniques, and prediction models. *J Dairy Sci.* 2018;101(7):6655-6674.

-Kuhla B. Zusammenhang zwischen Leistung und Methanemission der Milchkuh. Workshop Umweltemissionen aus der Milchkuhhaltung, 3. November 2016, Hannover.

-Kuhla B. Fütterungsstrategien zur Reduktion der Methanemission aus der Milchkuhhaltung. 19. Jahrestagung der Wissenschaftlichen Gesellschaft der Milcherzeugerberater e.V. 16.-18. Oktober 2018, Dummerstorf.

-Kuhla B. Techniken zur Messung der Stickstoff- und Methanemissionen. 19. Jahrestagung der Wissenschaftlichen Gesellschaft der Milcherzeugerberater e.V. 16.-18. Oktober 2018, Dummerstorf.

-Tümmler LM, Derno M, Kuhla B. Effect of plane of milk replacer feeding on feed intake and methane production from female Holstein dairy calves. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 2019, 28: 58.

b) weitere geplante Veröffentlichungen (in Vorbereitung)

- Tümmler et al., Effect of milk feeding intensity on methane production from female Holstein dairy calves. (*J Dairy Sci.*)

- Tümmler et al., Evaluation of physiological mechanisms accounting for methane production from calves.

Literaturverzeichnis des Berichts (keine eigenen Publikationen):

- Forbes JM, Barrio JP. Abdominal chemo- and mechanosensitivity in ruminants and its role in the control of food intake. *Exp Physiol.* 1992;77(1):27-50.
- Garnsworthy PC, Craigon J, Hernandez-Medrano JH, Saunders N. Variation among individual dairy cows in methane measurements made on farm during milking. *J Dairy Sci.* 2012;95(6):3181-9.
- Clemmons BA, Voy BH, Myer PR. Altering the Gut Microbiome of Cattle: Considerations of Host-Microbiome Interactions for Persistent Microbiome Manipulation. *Microb Ecol.* 2019;77(2):523-536.
- Goopy JP, Donaldson A, Hegarty R, Vercoe PE, Haynes F, Barnett M, Oddy VH. Low-methane yield sheep have smaller rumens and shorter rumen retention time. *Br J Nutr.* 2014;111(4):578-85.
- Gregory PC. Control of intrinsic reticulo-ruminal motility in the vagotomized sheep. *J Physiol.* 1984;346:379-93.
- Grovum WL. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 3. The effect of intravenous infusions of gastrin, cholecystokinin and secretin on motility of the reticulo-rumen and intake. *Br J Nutr.* 1981;45(1):183-201.
- Jing L, Zhang R, Liu Y, Zhu W, Mao S. Intravenous lipopolysaccharide challenge alters ruminal bacterial microbiota and disrupts ruminal metabolism in dairy cattle. *Br J Nutr.* 2014;112(2):170-82.
- Jentsch W, Schweigel M, Weissbach F, Scholze H, Pitroff W, Derno M. Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Arch Anim Nutr.* 2007;61(1):10-19.
- Jewell KA, McCormick CA, Odt CL, Weimer PJ, Suen G. Ruminal Bacterial Community Composition in Dairy Cows Is Dynamic over the Course of Two Lactations and Correlates with Feed Efficiency. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(14):4697-710.
- Kermani RZ, Rezaiee A. The effects of intravenous cholecystokinin, secretin and pentagastrin on electromyographic activity of the rumen in sheep. *Regul Pept.* 1993;45(3):371-7.
- Khan MA, Lee HJ, Lee WS, Kim HS, Ki KS, Hur TY, Suh GH, Kang SJ, Choi YJ. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *J Dairy Sci.* 2007;90(7):3376-87.

Mills JA, Kebreab E, Yates CM, Crompton LA, Cammell SB, Dhanoa MS, Agnew RE, France J. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. J Anim Sci. 2003;81(12):3141-50.

Münger A. and Kreuzer M. Absence of persistent methane emission in three breeds of dairy cows. Australian Journal of Experimental Agriculture 2008; 48, 77-82.

Park AF, Shirley JE, Titgemeyer EC, DeFrain JM, Cochran RC, Wickersham EE, Nagaraja TG, Johnson DE. Characterization of ruminal dynamics in Holstein dairy cows during the periparturient period. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2011;95(5):571-82.

Shi W, Moon CD, Leahy SC, Kang D, Froula J, Kittelmann S, Fan C, Deutsch S, Gagic D, Seedorf H, Kelly WJ, Atua R, Sang C, Soni P, Li D, Pinares-Patiño CS, McEwan JC, Janssen PH, Chen F, Visel A, Wang Z, Attwood GT, Rubin EM. Methane yield phenotypes linked to differential gene expression in the sheep rumen microbiome. Genome Res. 2014;24(9):1517-25.

Subharat S, Shu D, Zheng T, Buddle BM, Janssen PH, Luo D, Wedlock DN. Vaccination of cattle with a methanogen protein produces specific antibodies in the saliva which are stable in the rumen. Vet Immunol Immunopathol. 2015;164(3-4):201-7

Williams YJ, Popovski S, Rea SM, Skillman LC, Toovey AF, Northwood KS, Wright AD. A vaccine against rumen methanogens can alter the composition of archaeal populations. Appl Environ Microbiol. 2009;75(7):1860-6.

Yáñez-Ruiz DR, Abecia L, Newbold CJ. Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. Front Microbiol. 2015;6:1133.

Dummerstorf, 13.05.2019

Ort, Datum

LEIBNIZ-INSTITUT
FÜR NUTZTIERBIOLOGIE
Institut für Ernährungsphysiologie „Oskar Kellner“
Wilhelm-Stahl-Allee 2
18196 Dummerstorf · Germany

Stempel, Unterschrift