

Quantifizierung der Methanemissionen bei Rindern mit Hilfe des fäkalen Biomarkers Archaeol

Quantification of bovine methane emissions using the faecal biomarker archaeol

FKZ: 12NA126

Projektnehmer:

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Institut für Tierzucht und Tierhaltung
Hermann-Rodewald Straße 6, 24118 Kiel
Tel.: +49 431 8802584
Fax: +49 431 8802588
E-Mail: gthaller@tierzucht.uni-kiel.de
Internet: www.tierzucht.uni-kiel.de

Autoren:

Krattenmacher, Nina; Thaller, Georg

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

**Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft**

Quantifizierung der Methanemissionen bei Rindern mit Hilfe des fäkalen Biomarkers Archaeol

Förderkennzeichen 2812NA126

Schlussbericht

M.Sc. agr. Lisa-Marie Sandberg

Dr. Nina Krattenmacher

Prof. Dr. Georg Thaller



Institut für Tierzucht und Tierhaltung der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Hermann-Rodewald-Straße 6, D-24118 Kiel



Tel: +49-431-880 2590

Email: gthaller@tierzucht.uni-kiel.de

nkrattenmacher@tierzucht.uni-kiel.de

Zuwendungsempfänger:	<p>Christian-Albrechts-Universität zu Kiel Institut für Tierzucht und Tierhaltung Prof. Dr. Georg Thaller Hermann-Rodewald Straße 6 24118 Kiel Tel.: 0431 880 7329 E-Mail: gthaller@tierzucht.uni-kiel.de</p>
Förderkennzeichen:	2812NA126
Vorhabenbezeichnung:	Quantifizierung der Methanemissionen bei Rindern mit Hilfe des fäkalen Biomarkers Archaeol (MethanA)
Laufzeit des Vorhabens:	01.11.2013 bis 31.01.2017
Kooperationspartner:	<p>Leibniz Institut für Nutztierbiologie (FBN) Institut für Ernährungsphysiologie ‚Oskar Kellner‘ PD Dr. Cornelia Metges Wilhelm-Stahl-Allee 2 18196 Dummerstorf Tel.: 038208 68 650 E-Mail: metges@fbn-dummerstorf.de</p>

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
1. Einführung	8
1.1 Gegenstand und Ziele des Vorhabens	8
1.2 Planung und Ablauf des Projektes	10
1.3 Anknüpfung an wissenschaftlichen und technischen Stand	12
2. Material und Methoden	16
2.1 Auswertung Kammerversuch - Erste Projektphase	16
2.2 Praxisversuch - Zweite Projektphase	21
3. Ergebnisse und Diskussion	24
3.1 Auswertung Kammerversuch - Erste Projektphase	24
3.2 Praxisversuch - Zweite Projektphase	32
4. Nutzen der Erkenntnisse	36
5. Gegenüberstellung ursprünglich geplanter und tatsächlich erreichter Ziele	37
6. Zusammenfassung	38
7. Literaturverzeichnis	39
8. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen	44
Anhang - Erfolgskontrollbericht	

Abkürzungsverzeichnis

ADF	Acid (Saure) Detergenzienfaser
CH ₄	Methan
ECM	Energiekorrigierte Milchmenge
FR	faserreiche Ration
FUA	Futteraufnahme
NDF	Neutrale Detergenzienfaser
TM	Trockenmasse
TMA	Trockenmasseaufnahme
SED	Standardfehler der Differenz
SR	stärkereiche Ration

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Futterbestandteile und chemische Zusammensetzung der zwei verschiedenen Rationen während der Respirationsmessungen.	19
Tabelle 2. Fütterungsregime zum Zeitpunkt der Gaswechselfmessungen.	20
Tabelle 3. Least Square Mittelwerte ausgewählter Merkmale für den fixen Effekt des Versuchs (Laktationsphase/Ration).	25
Tabelle 4. Schätzgleichungen ausgewählter Merkmale und die Beziehung zum fäkalen Archaeolgehalt mit dem fixen Effekt des Versuchs (Laktationsphase/Ration).	31
Tabelle 5. Deskriptive Statistik ausgewählter Merkmale für die 31 Kühe der 1. bis 3. Laktation.	33
Tabelle 6. Least Square Mittelwerte für das Merkmal fäkaler Archaeolgehalt nach Zeitpunkt der Probennahme.	36
Tabelle 7. Korrelation tierbedingter Effekte nach Pearson.	36

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Experimentelles Design des Vorversuches zum Projekt MethanA (ZIESLER, 2013).	18
Abbildung 2. Chronologie der Versuchsdurchläufe in den Respirationskammern (LINDENA, 2013).	18
Abbildung 3. Zeitstrahl eines Tagesablaufs an den Respirationstagen (ZIESLER, 2013).	21
Abbildung 4. Zeitstrahl des normalen Entnahmeschemas von Kot bei allen Milchkühen (Proben 1 - 6) und des engmaschigen Entnahmeschemas (Proben #A - #F) bei einer kleineren Kohorte von 18 Kühen zur Archaeolanalyse im Produktionszyklus.	23
Abbildung 5. Regression der Methanproduktion (in l) auf den Archaeolgehalt im Kot (in $\mu\text{g/g}$) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.	27
Abbildung 6a und 6b. Regression der Methanproduktion (MP, l/d) auf den Archaeolgehalt im Kot (in $\mu\text{g/g}$ und g/d) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.	27
Abbildung 7. Regression der Methanproduktion (l/kg TM-Aufnahme) auf den Archaeolgehalt im Kot (in $\mu\text{g/g}$) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.	30
Abbildung 8. Regression der Methanintensität (ECM, l/kg) auf den Archaeolgehalt im Kot (in $\mu\text{g/g}$) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.	31
Abbildung 9. Boxplots der fäkalen Archaeolgehalte für die Einzeltiere farbig gruppiert nach Laktationsnummer.	33

Abbildung 10. Variation der fäkalen Archaeolgehalte nach Laktationen.	34
Abbildung 11. Mittlerer Verlauf der fäkalen Archaeolgehalte für Tiere in den Laktationen 1,2 sowie 3.	34
Abbildung 12. Least Square Mittelwerte der fäkalen Archaeolkonzentration in $\mu\text{g pro g}$ Trockenmasse im Kot für die Laktation dargestellt im Produktionsverlauf.	35

1. Einführung

1.1 Gegenstand und Ziele des Vorhabens

Strategien zur Reduktion klimaschädlicher Emissionen aus der Tierhaltung stellen global eine große Herausforderung dar und werden daher intensiv beforscht. Im Jahr 2014 wurden in Deutschland rund 58 % des klimawirksamen Spurengases Methan von der Landwirtschaft emittiert. Dazu trugen Milchkühe den größten Anteil bei (UBA 2016). Die Rinderhaltung rückte als Hauptverursacher anthropogener Methanemissionen in das öffentliche Interesse, da Methan von Wiederkäuern bei der Verdauung von Futterbestandteilen durch die ruminale Methanogenese gebildet wird.

In der Literatur finden sich Hinweise, die für eine wirtsspezifische Variation der Methanemissionen bei Wiederkäuern sprechen und somit Ansatzmöglichkeiten zur Entwicklung von Zuchtstrategien zur Minderung der Methanemissionen bieten (s. z.B.: BRADE et al. 2016, HAYES et al. 2016). So zeigten WEIMER et al. (2010), dass die mikrobiologische Besiedlung des Rinderpansens stark wirtsabhängig und außerdem relativ stabil ist. Sie führten ein Experiment mit laktierenden Milchkühen durch, bei dem über eine Fistel mehr als 95% des Panseninhaltes entnommen und im Anschluss daran ein Austausch der Panseninhalte zwischen zwei Kühen vorgenommen wurde. Die Tiere wurden danach ausgewählt, dass sie bei gleicher Fütterung möglichst große Unterschiede hinsichtlich ihrer ruminalen Mikroflora zeigten. Innerhalb von zwei bis neun Wochen veränderte sich die Zusammensetzung des Mikrobioms wieder in Richtung der Ursprungsgemeinschaft. Die Forscher erklärten diese Beobachtung damit, dass bestimmte Bakterienstämme besser oder schlechter an die jeweiligen physiologischen Gegebenheiten im Pansen des Wirtstieres angepasst seien, so dass sie sich auch bei einem so massiven Eingriff wie dem oben skizzierten ihre alte Nische zurückerobern können. Die Wechselwirkungen zwischen Kühen und ihren Mikroorganismen im Pansen weisen auf einen unmittelbaren Einfluss der Genetik einer Kuh auf die Besiedlung ihres Pansens mit Mikroorganismen hin. VAN ENGELEN et al. (2015) schätzten für das Merkmal eine Heritabilität von 0,12 bis 0,44 und stellten damit die züchterische Relevanz heraus. Genetisch-züchterische Strategien zur Emissionsreduktion erfordern jedoch eine umfangreiche tierindividuelle Datenerhebung des individuellen Methanausstoßes in praxi. Die direkte Erfassung der Methanproduktion in Respirationskammern ist technisch aufwändig und kostenintensiv und kann aus diesem Grund nur an wenigen Tieren durchgeführt werden. Vor diesem Hintergrund wurde nach geeigneten Alternativen zu den durchsatzschwachen Respirationskammern gesucht und neue Verfahren, wie die Nutzung von Indikatormerkmalen, diskutiert. Ein interessanter

Ansatzpunkt ist die Verwendung des fäkalen Archaeolgehaltes als Hilfsmerkmal zur Quantifizierung der Methanausscheidung. Archaeol ist das Membranlipid der methanogenen Archaeen welches sich im Kot nachweisen lässt. In einer Pilotstudie untersuchten GILL et al. (2010) den Kot verschiedener herbivorer Tierarten (Wiederkäuer und Nicht-Wiederkäuer) und stellten fest, dass sich Archaeol lediglich im Kot von Wiederkäuern nachweisen lässt. Da Archaeol in unterschiedlichen Konzentrationen im Kot auftrat, schlussfolgerten GILL et al. (2010), dass Archaeol als Biomarker für die Methanogenese Anwendung finden könnte.

Diese Hypothese konnte durch eine weitere Studie untermauert werden (GILL et al. 2011). MCCARTNEY et al. (2013) beobachteten eine signifikante lineare Beziehung zwischen dem Methanausstoß und dem Archaeolgehalt im Kot unter Berücksichtigung der Trockenmasseaufnahme ($R^2 = 0,53$).

Es bedarf auf diesem Gebiet intensiver Forschungsaktivitäten hinsichtlich Klimagasentstehung und den Möglichkeiten züchterisch auf den Methanausstoß Einfluss zu nehmen. Die Bewertung von einer Vielzahl an Kühen hinsichtlich ihres individuellen Beitrags zu unmittelbar klimarelevanten Kenngrößen wäre nur unter Anwendung kostengünstiger und praxistauglicher Methoden realisierbar. Weitere Studien waren erforderlich, um die Korrelation zwischen fäkaler Archaeolkonzentration und Methanproduktion genauer zu schätzen, den Einfluss des Laktationsstadiums präziser zu untersuchen und somit die Eignung von Archaeol als Biomarker für die Methanproduktion zu überprüfen.

Das wissenschaftliche Ziel des Forschungsvorhabens war die Validierung der indirekten Methode zur Quantifizierung des Merkmals Methanoutput mittels des fäkalen Archaeolgehaltes bei Rindern. Mittel einer Longitudinalstudie an der gut phänotypisch untersuchten Versuchsherde in Karkendamm sollte darüber hinaus die Variation der Archaeolausscheidung in der Trockenstehphase sowie im Laktationsverlauf untersucht werden. Dies liefert erstmalig neueste Erkenntnisse über die Konstitution der untersuchten Subpopulation hinsichtlich der Archaeolausscheidung. Die Bedeutung fixer Einflussfaktoren sollten ermittelt werden, um optimierte Managementstrategien für große Herden zu konzipieren. Verfolgt wurde das Ziel, ein neuartiges Verfahren zu etablieren, welches die Schätzung der Einzeltieremissionen bei Rindern erstmals auch unter Standardbedingungen in der Praxis ermöglichen könnte.

Kernziele des Projektes:

- Evaluierung einer indirekten Methode zur Bestimmung der Methanemissionen über Archaeol im Kot von Rindern.
- Überprüfung der Robustheit von Archaeol als Indikator für die tierindividuelle Methanbildung.

- Merkmalerhebung für fäkalen Archaeolgehalt an einer großen Anzahl von Tieren erstmalig unter Praxisbedingungen.
- Analyse der Archaeolausscheidung und ihrer Variation bei Milchkühen in verschiedenen Produktionsstadien.

1.2 Planung und Ablauf des Projektes

Um den Archaeolgehalt im Kot zu bestimmen, waren aufwendige und zeitintensive Laborarbeiten notwendig. Im Rahmen des Projektes wurde daher direkt mit Beginn die Etablierung und Validierung der mengenmäßigen Archaeolbestimmung mittels gaschromatographisch-massenspektrometrischer Analyse vom Projektpartner dem Institut für Ernährungsphysiologie „Oskar Keller“ am FBN Dummerstorf durchgeführt (GÖRS et al., 2016).

Erste Projektphase:

Zunächst wurde die Beziehung zwischen fäkaler Archaeolkonzentration in $n = 180$ Kotproben gemessen und der Methanbildung anhand zehn laktierender Kühe der Versuchsherde Karkendamm, die im Rahmen eigener Vorarbeiten bereits im Jahr 2012 eine Versuchsphase in den Respirationenkammern des Leibniz-Institutes für Nutztierbiologie in Dummerstorf durchlaufen hatten, überprüft. Während dieser Vorversuchsphase (d.h. im Rahmen der eigenfinanzierten Vorarbeiten) haben die Tiere eine totale Mischration vom Versuchsbetrieb Karkendamm erhalten. Dadurch konnte eine spätere Übertragung und Implementierung der Methode in den versuchsbetrieblichen Alltag in Karkendamm gewährleistet werden, da gegenwärtig bekannt ist, dass die Methanausscheidung erheblich durch die Futterzusammensetzung beeinflusst wird (JOHNSON und JOHNSON, 1995).

Ergänzend zu den analysierten Kotproben wurde auf eingelagerte Kotproben ($n = 64$) früher durchgeführter Dummerstorfer Versuche, in denen standardmäßig ebenfalls Methan erhoben wurde, zurückgegriffen und deren Archaeolgehalt analysiert, um die Datenmenge zu erhöhen.

Zweite Projektphase:

Anschließend wurden im Rahmen der zweiten Projektphase in größerem Umfang wiederholt Kotproben von 40 Karkendamm-Tieren in der 1., 2. bzw. 3. Laktation ($n = 380$) gesammelt und deren Archaeolgehalt analysiert. Die Sammlung der Kotproben in der Karkendamm-Herde startete direkt nach dem Einstellen der Doktorandin im Februar 2014. Es erfolgten wiederholte Beprobungen im Laktationsverlauf, sodass ein Jahr lang einmal wöchentlich die

Probennahme stattfand. Für jede Kuh war die letzte Probe in der Trockenstehphase geplant, sodass im August 2015 die Kotprobennahme auf Karkendamm abgeschlossen wurde.

Das auf dem Versuchsbetrieb routinemäßig erhobene Datenmaterial (z.B. Milchmenge, Milchinhaltsstoffe, Futteraufnahme, Energiebilanz, Körperkondition und Gesundheitsdaten) wurde für den gesamten Beprobungszeitraum aus der Datenbank extrahiert und auf Plausibilität überprüft. Basierend auf dem aus der Beprobung der Karkendamm-Herde resultierenden Datensatz wurde ein Modell entwickelt, welches die Abhängigkeit der Archaeolausscheidung von Umweltparametern berücksichtigt und dieses neue Merkmal bestmöglich abbildet. Im Anschluss an die Modellevaluierung wurden Wiederholbarkeiten für die tierindividuelle Archaeolausscheidung als Indikator für die Methanogenese geschätzt werden. Außerdem wurden tierbedingte Korrelationen zwischen der Archaeolausscheidung und züchterisch bedeutsamen Merkmalen (wie z. B. Milchmenge, Milchinhaltsstoffe, Futteraufnahme) bestimmt. Anhand dieser Schätzwerte wurde der züchterische Handlungsspielraum für die Minderung der Methanausscheidung mit Hilfe des fäkalen Biomarkers Archaeol abgeschätzt.

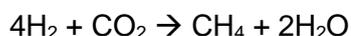
Einzelne Arbeitsschritte in chronologischer Reihenfolge:

1. Etablierung der Archaeol-Analytik im Kot mittels GC-MS (vom FBN Dummerstorf)
2. Kotprobensammlung auf dem Versuchsbetrieb Karkendamm (Feb. 2014 - Aug. 2015)
3. GC-MS-Analytik der unten aufgelisteten Kotproben (vom FBN Dummerstorf)
 - 180 Einzelkotproben aus Kammer-Versuch mit Karkendamm-Tieren
 - 64 Einzelproben aus weiteren FBN-Versuchen
 - 150 Proben aus wiederholter Beprobung von 30 Karkendamm-Kühen während der Laktation
 - 60 Proben aus wiederholter Beprobung einer Subgruppe (n = 18) der o.g. 30 Kühe über einen Zeitraum von einem Monat (Probenahme in einwöchigem Intervall)
4. Statistische Auswertung der Ergebnisse
 - 4.1. Verarbeitung der Respirationsskammerdaten
 - 4.1.1. Berechnung phänotypischer Korrelationen zwischen Methanausscheidung und Archaeolkonzentration im Kot
 - 4.1.2. Identifizierung von Einflussfaktoren auf die fäkale Archaeolausscheidung
 - 4.2. Auswertung der Praxisdaten
 - 4.2.1. Modellevaluierung für das Merkmal Archaeolausscheidung
 - 4.2.2. Ermittlung fixer Einflussfaktoren und Wiederholbarkeitsschätzung

4.2.3. Schätzung phänotypischer Korrelationen zwischen der Archaeol-ausscheidung und züchterisch bedeutsamen Merkmalen

1.3 Anknüpfung an wissenschaftlichen und technischen Stand

Methan ist ein farb- und geruchloses Gas, welches bei Wiederkäuern vornehmlich im Pansen (87 %) und zu einem geringen Teil im Dickdarm (13 %) produziert wird (GRESSLEY et al., 2011; MURRAY et al. 1976). Es entsteht als Gärgas beim mikrobiellen Abbau organischer Substanzen unter strikt anaeroben Bedingungen. Die verantwortlichen Methanbildner sind Mikroorganismen der Domäne Archaea. Beim Abbau komplexer Polysaccharide wird Wasserstoff (H₂) von den meisten methanogenen Archaeen als Energiequelle genutzt und dabei in Verbindung mit Kohlenstoffdioxid (CO₂) zu Methan (CH₄) verstoffwechselt:



Die im Pansen gebildeten Gase setzen sich zusammen aus 20 bis 40 % Methan und 40 bis 70 % Kohlenstoffdioxid (VON ENGELHARDT, 2010). In den Pansengasen sind neben Methan und Kohlenstoffdioxid auch sehr geringe Mengen Stickstoff und Wasserstoff enthalten (JEROCH et al., 2008). Die Fermentationsgase Methan und Kohlenstoffdioxid sind nicht weiter verstoffwechselbar und werden hauptsächlich über einen vom Nervus vagus ausgelösten Reflex, den Ruktus, durch die Speiseröhre nach außen abgegeben (IMMIG, 1996; KOLB, 1989; KIRCHGESSNER et al., 2011]. Das von Rindern produzierte Methan stellt einen Bruttoenergieverlust von 55 kJ/g dar (FLACHOWSKY und BRADE, 2007), sodass der Milchkuh zwischen 6 und 12 % der verdaulichen Energie verloren gehen [O'NEILL et al. 2012; JOHNSON und JOHNSON, 1995]. Ein Milchrind produziert zwischen 200l und 600l Methan pro Tag, was u.a. vom gegenwärtigen Trächtigkeits- oder Laktationsstadium des Tieres abhängt (GARNSWORTHY et al., 2012a; KREUZER, 2011). Eine Minderung der ruminalen Methanproduktion ist demnach sowohl im Sinne einer ressourceneffizienten Produktion als auch im Hinblick auf die globale Klimaentwicklung erstrebenswert.

Die Aktivität methanogener Archaeen als letztes Glied der anaeroben Nahrungskette stellt einen natürlichen und verdauungsphysiologisch notwendigen Prozess dar, welcher nur sehr eingeschränkte produktionsphysiologische und produktionstechnologische Reduktionsansätze bietet. Effizienteres Management und eine Prozessoptimierung führen nur geringgradig zu einer Senkung von Methanintensitäten. Die Einflussnahme über das Fütterungsmanagement wurde bereits relativ früh intensiv erforscht (MILLS et al., 2003; ESTERMANN et al., 2002; JOHNSON und JOHNSON, 1995). Die Gestaltung der Ration spielt für die Menge an ruminal produziertem Methan eine entscheidende Rolle. So kann der Methanausstoß in Abhängigkeit von der Rationszusammensetzung nachweisbar erhöht oder

verringert werden. Auch die Futtermittelaufnahme übt einen entscheidenden Einfluss auf die Methanproduktion aus. Tiere, die ad libitum gefüttert werden, neigen zu einer höheren Methanproduktion als Tiere unter restriktiver Fütterung (MCALLISTER et al., 1996). Die umfassenden Möglichkeiten mittels gezielter Fütterung tierische Methanemissionen zu senken sind eingehend erforscht worden, allerdings wurden auch ihre Grenzen aufgezeigt. Der größte limitierende Faktor stellt hier die Rationszusammensetzung dar, da diese stets wiederkäuergerecht gestaltet sein muss (COTTLE et al., 2011; HOOK et al., 2010; BEAUCHEMIN et al., 2008; FLACHOWSKY und BRADE, 2007; BOADI et al., 2004; WRIGHT et al., 2004).

Über die Einflüsse der Fütterung hinaus ist bekannt, dass die verschiedenen Mikroorganismen miteinander konkurrieren oder Symbiosen eingehen können. Häufig sind methanogene Archaeen in Symbiose mit Protozoen anzutreffen, die Propionsäurebildner dagegen konkurrieren mit den methanogenen Mikroorganismen im Pansen um die verfügbaren Wasserstoffatome (ELLIS et al., 2008). Biotechnologische Zusätze wurden in diesem Zusammenhang als vielversprechender Minderungsansatz diskutiert, jedoch ist die Diversität und funktionelle Plastizität der methanogenen Gemeinschaft im Pansen ein stark einschränkender Faktor für eine erfolgreiche und langfristig wirksame Applikation (MARTIN et al., 2010).

In der Vergangenheit konnte der Methanausstoß vor allem durch die Leistungssteigerung je Tier und den dadurch bedingten Rückgang der Rinderbestände beachtlich reduziert werden. Hier ist aufgrund bestehender Merkmalsantagonismen zwischen Produktions- und Gesundheitsmerkmalen aber zumindest auf nationaler Ebene zukünftig nur noch wenig Spielraum gegeben (SCHWERIN et al., 2012).

Die methanogenen Archaeen sowie der eigentliche Vorgang der Methanogenese werden durch eine Vielzahl weiterer Faktoren beeinflusst. Nennenswerte Einflussfaktoren und physiologische Charakteristika des Wirtes im Hinblick auf die produzierte Methanmenge sind Rasse, Alter, Körpergewicht, Milchleistung, Milch-Fett-Zusammensetzung, Passagerate, Pansenmotilität, Pansengröße und Residualfuttermittelaufnahme (GOOPY et al., 2014; CARBERRY et al., 2013; RICCI et al., 2013; GARNSWORTHY et al., 2012a; MÜNGER und KREUZER, 2008).

Züchterische Maßnahmen könnten einen entscheidenden Beitrag zur Emissionsverringeringung leisten, da sie gegenüber anderen permanent und multiplikativ sind. Methanemissionen züchterisch zu beeinflussen ist bisher nur indirekt, beispielsweise durch Selektion auf längere Nutzungsdauer, möglich (FLACHOWSKY und BRADE, 2007). Welchen Beitrag die Tierzucht zur Emissionsreduktion und damit gleichzeitig zu einer effizienteren Futtermittelnutzung leisten kann, ist jedoch vergleichsweise wenig erforscht.

Bei der Testung neuer Methoden für die Quantifizierung der tierindividuellen Methanemission kommen Respirationenkammern häufig als Goldstandard zum Einsatz, da sie zuverlässige Messwerte liefern und bis dato an Präzision durch keine andere Methode zur direkten Messung des Methanausstoßes übertroffen wurden.

Bei Respirationenkammern für große Wiederkäuer mit offenen Kreisläufen findet ein kontinuierlicher Austausch mit der Außenluft statt (DERNO et al., 2009). Die Gase im Frischluftzulauf sowie die der Abluft werden fortwährend für die Gasanalyse gesammelt. Ein Multi-Gas-Analysegerät untersucht die Gaszusammensetzung dieser Luft. Luftpumpen sorgen für die Luftzirkulation mit programmierbaren Flussraten. Anhand der bestimmten Konzentrationen von Methan, Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid aus der Zu- und Abluft lassen sich Gasdifferenzen zwischen der Außen- und der Innenluft genauestens und in kurzen Zeitintervallen ermitteln. Daraus resultieren die vom Tier erzeugten und verbrauchten Gasmengen (MUÑOZ et al., 2012). Die Kammern sind mit hochmodernen computergestützten Systemen ausgestattet, mit welchen die Atmosphäre im Inneren genauestens eingestellt und überwacht werden kann. So befinden sich im Inneren Sensoren zur Messung der relativen Luftfeuchte, der Temperatur und des Luftdrucks (STORM et al., 2012; DERNO et al., 2009). Die Kammertemperatur wird für die meisten Studien zwischen 10°C und 20°C eingestellt, um eine thermoneutrale Umwelt für die Tiere zu gewährleisten (BEAUCHEMIN und MCGINN, 2006 und 2005; NKRUMAH et al., 2006; MCGINN et al., 2004). In den Kammern finden sich als Grundausstattung generell ein Futterwiegetrog und eine Tränke, mit denen die Nahrungs- und Wasseraufnahme erfasst werden. Im hinteren Teil der Kammern befindet sich Spaltenboden, durch welchen die Fäkalien in das Untergeschoss oder einen Schacht im Boden fallen und gesammelt werden können. Die Kammern sind vom Menschen über eine Luftschleuse begehbar, wodurch Füttern, Melken und Untersuchungen am Tier ohne unkontrollierten Fremdlufteintrag sichergestellt wird. Benachbarte Kammern sind mit einer Sichtscheibe ausgestattet, sodass der Sozialkontakt zu anderen Tieren zumindest eingeschränkt gegeben ist (DERNO et al., 2011).

Neben der hohen Messgenauigkeit zeichnen sich Gaswechselkammern durch den Vorteil aus, parallel zur Stoffwechsellleistung die individuelle Nahrungsaufnahme erfassen zu können. Es besteht damit die Möglichkeit die Beziehung zwischen Futteraufnahme und Methanausscheidung zu ermitteln. Den Vorteilen und Möglichkeiten stehen allerdings einige Limitierungen gegenüber. So sind die Gebäude- und Personalbereitstellung, der Laboraufwand, die technische Einrichtung und folglich das Betreiben und Instandhalten solcher Anlagen mit äußerst hohen Kosten verbunden. Ein weiterer Negativ-Faktor ist der begrenzte Durchsatz. Der Transport ausgewählter Tiere zu den Kammern und die Messphase inklusive Vorbereitung sind zeitintensiv, sodass in den wenigen mit Gaswechselkammern ausgestatteten Forschungseinrichtungen nur geringe Tierzahlen

jährlich untersucht werden können. Groß angelegte Phänotyp-Untersuchungen sind daher nicht möglich (PINARES und WAGHORN, 2014).

Für eine Gaswechsellmessung vorgesehene Tiere müssen vorab an den mehrtägigen Aufenthalt in der Kammer gewöhnt werden, sodass Stressoren minimiert und repräsentative Messergebnisse generiert werden können (KURIHARA et al. 1999). Diese Adaptionsphase ist zeitaufwändig und kann je nach Tier drei Tage bis drei Wochen in Anspruch nehmen. Erst im Anschluss an das Training und unter der Voraussetzung, dass die Tiere in der Kammer freiwillig Nahrung aufnehmen, wiederkauen und sich ablegen, kann die Messphase erfolgen.

Aus ethischen sowie arbeitswirtschaftlichen Gründen ist der Aufenthalt der Tiere in den Kammern zeitlich auf wenige Tage begrenzt. Den Tieren wird während der Messphase nicht nur der direkte Sozialkontakt zu Artgenossen verwehrt, auch die notwendige Fixierung auf engem Raum und der daraus resultierende Bewegungsmangel sind über einen längeren Zeitraum tierschutzrelevant. Der Messzeitraum muss wegen der Limitierung sorgfältig gewählt werden. Ungeachtet dessen spiegelt die Messung stets nur ein Auszug des Lebens eines Tieres wider (DERNO et al., 2011). Ideal wären wiederholte Messungen in verschiedenen Altersstadien bzw. unterschiedlichen physiologischen Stadien, was jedoch nur selten realisiert werden kann. Es stellt sich zumeist die Frage, wie repräsentativ die Messung ist bzw. wie akkurat der Phänotyp der aufgestellten Tiere beschrieben werden kann (PICKERING et al., 2015; PINARES-PARIÑO et al., 2013). Letzteres hängt unter anderem davon ab, wie erfolgreich die Gewöhnung an die Haltungsumwelt in der Kammer war.

Während eines Versuchsdurchlaufs wird den Tieren zu festgelegten Zeiten, gewöhnlich zweimal täglich, Futter vorgelegt. Häufigeres Füttern ist aufgrund des damit einhergehenden hohen Arbeitszeitbedarfs i.d.R. nicht praktikabel (JENTSCH et al., 2009; PINARES-PATIÑO et al., 2008). Bei Weidehaltung oder auch bei der weit verbreiteten ad libitum Fütterung in Stallhaltung steht den Tieren frei, über den gesamten Tag verteilt Futter aufzunehmen. Die Kammersituation kann das Fress- oder Grasverhalten in praxi nur mit Einschränkungen reflektieren. Schlussfolgernd ist nicht gewährleistet, dass die in der Kammer ermittelten Methanausscheidungen auch die Emissionen unter praktischen Bedingungen abbilden (LOCKYER und CHAMPION, 2001).

Respirationskammern werden häufig als Vergleichsmethode bei der Evaluierung neuer und zur Verbesserung bestehender Methoden herangezogen und als Goldstandard bezeichnet (CHAGUNDA et al., 2013; DEIGHTON et al., 2013a; DERNO et al. 2009; JENTSCH et al., 2009; KURIHARA et al. 1999). Letzteres kann durchaus kritisch hinterfragt werden. Respirationskammern stellen für das Tier eine künstliche Umwelt dar, in der die Möglichkeiten, natürliches Verhalten auszuüben, enorm eingeschränkt sind. Die motorische Aktivität der Tiere ist in den Kammern aufgrund der stark eingeschränkten Bewegungsfreiheit

deutlich vermindert und auch die Futteraufnahme wird durch die Kammersituation in unbekannter Größenordnung beeinflusst (GARNSWORTHY et al., 2012b).

2. Material und Methoden

Im Folgenden werden Material und Methoden, die in den zwei Phasen des Projektes (1. Auswertung des Kammerversuchs und 2. Praxisversuch) zur Anwendung kamen, separat erläutert. Die statistischen Auswertungen erfolgten mittels des Softwarepaketes SAS (SAS Institute Version 9.4, 2013).

2.1 Auswertung Kammerversuch – Erste Projektphase

Als Vorarbeit zum Versuchsvorhaben ‚MethanA‘ wurde im Jahr 2012 eine Untersuchung vom Institut für Ernährungsphysiologie ‚Oskar Kellner‘ des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie (FBN) in Dummerstorf in Zusammenarbeit mit dem Institut für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU) durchgeführt. Dafür wurden im Zeitraum vom 26. Juni bis zum 6. Dezember 2012 zehn Kühe vom Versuchsbetrieb Karkendamm des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der CAU für die experimentelle Untersuchung in Respirationenkammern beim FBN Dummerstorf (DERNO et al., 2009) eingestallt. Der für die Durchführung eines Tierversuchs obligatorische Tierversuchsantrag gemäß Tierschutzgesetz wurde am 21. März 2012 gestellt und vom Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern (LALLF MV) mit Schreiben vom 7. Mai 2012 genehmigt.

Das Tiermaterial umfasste weibliche laktierende Milchrinder der Rasse Deutsche Holstein. Ausgewählt wurden vier erstlaktierende und sechs zweitlaktierende Kühe, um den Einfluss der Laktationsnummer auf die analysierten Stoffwechselfparameter untersuchen zu können.

Die Tiere wurden rund drei Wochen vor Messbeginn in den Stallanlagen des Leibniz-Instituts eingestallt. Für eine möglichst stressarme Versuchsdurchführung fand zunächst eine Gewöhnung der Tiere an die Kammerbedingungen statt. Dafür hielten sie sich vorher mindestens dreimal für vier Stunden in die Kammern auf. Eine Adaptation galt als erfolgreich, wenn die Tiere die Kammern freiwillig betraten, darin Ruhe bewahrten und neben der Futter- und Wasseraufnahme auch Wiederkauen und Ablegen zeigten. Es erfolgte immer mindestens eine paarweise Haltung mit Sichtkontakt durch eine große Acrylglascheibe zwischen den Kammern, um den kurzzeitigen Sozialentzug möglichst gering zu halten. Darüber hinaus konnten die Tiere durch Vokalisation miteinander kommunizieren.

Jedes Tier durchlief die Gaswechselfmessung in den Stoffwechselkammern für große Wiederkäuer zwei Mal zu definierten Laktationsstadien (100. \pm 3 und 135. \pm 3 Laktationstag, s. Abbildung 1). Die Terminierung der Kammeraufenthalte begründete sich damit, sicherzustellen, dass die Tiere zum Zeitpunkt des Einstallens in die Kammern keiner zusätzlichen physiologischen Belastung ausgesetzt sind, da Hochleistungskühe zu Beginn

Das experimentelle Design umfasste den Einsatz zweier verschiedener Rationen. Vor und während der ersten Messphase wurde eine stärke- und energiereiche Gesamtmischung (**SR**: 178 g Stärke und 7,2 MJ NEL/kg TS) verfüttert. Im Anschluss an eine 33-tägige Futterumstellung erfolgte die zweite Messphase mit einer faserreicheren und energieärmeren totalen Mischung (**FR**: 99 g Stärke und 6,7 MJ NEL/kg TS; s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Futterbestandteile und chemische Zusammensetzung der zwei verschiedenen Rationen während der Respirationsmessungen.

	SR Ration (Karkendammer)	FR Ration (Dummerstorfer)
<i>Bestandteil, g/kg TM</i>		
Anweilksilage	217	279
Maissilage	317	177
Luzerneheu	16	-
Luzernesilage	5	-
Heu	-	42
Stroh	-	83
Trockenschnitzel	-	131
Krafftuttermischung	368	214
Sojaextraktionsschrot, 44% CP	55	64
Mineralfuttermischung	22	10
<i>Chemische Zusammensetzung</i>		
Trockenmasse (TM), g/kg OM	525	552
Rohprotein, g/kg TM	183	174
Rohfett, g/kg TM	44	27
Rohfaser, g/kg TM	170	190
Stärke, g/kg TM	178	99
Zucker, g/kg TM	50	61
NDF, g/kg TM	324	349
ADF, g/kg TM	210	205
NEI, MJ/kg TM	7.2	6.7

Ein weiterer Aspekt der experimentellen Gaswechselformung war die terminierte Restriktion der Futtermenge zum zweiten und dritten Tag in der Stoffwechselkammer (s. Tabelle 2). Auf diese Weise sollte (im Rahmen einer Masterarbeit von Frau J. Ziegler) überprüft werden, inwieweit der Methanausstoß, welcher vorrangig durch die Höhe der Futteraufnahme bestimmt wird, ein Basislevel erreicht.

Tabelle 2. Fütterungsregime zum Zeitpunkt der Gaswechselfmessungen.

Kammertag	Uhrzeit	Fütterungsmenge
1	07:00	ad libitum
	15:00	ad libitum
2	07:00	50% vom 1.Tag
	15:00	5% vom 1.Tag
3	07:00	5% vom 1.Tag
	15:00	ad libitum

So bekamen die Tiere am ersten Respirationstag Futter zur freien Verfügung (ad libitum). Am zweiten Respirationstag zur Morgenfütterung des zweiten Tages erhielten die Tiere lediglich 50 % der Futtermenge, welche sie am Vortag aufgenommen hatten. Eine starke Restriktion fand dann zur Abendfütterung sowie zur Morgenfütterung des dritten Tages statt mit nur 5 % der Ersttagesfutteraufnahme. Hierdurch wurde ein Zustand kurzfristiger Unterernährung induziert. Eine erneute ad libitum Fütterung wurde am Abend des dritten Tages gewährt. Die individuelle Futteraufnahme jeden Tieres wurde über die Wiegetröge in den Respirationsskammern erfasst und bildete die Grundlage zur Bestimmung der Fütterungsmenge. Die Temperatur in den Respirationsskammern betrug 15°C und ein Tag-Nacht-Rhythmus mit 13 stündiger Hellphase wurde simuliert. Das Einstellen in die Kammer erfolgte jeweils am Montag 14:30 Uhr. Die Versuchstiere befanden sich ab da 90 Stunden in den Respirationsskammern. In dieser Zeit wurde die Gaswechselfmessung für dreimal 24 Stunden durchgeführt. Das Ausstellen fand jeweils Freitag um 07:00 Uhr statt. Die Lebendmasse der Tiere wurde direkt vor dem Einstellen in die Respirationsskammer für den ersten Respirationstag und nach Abschluss der Gaswechselfmessung für den dritten Respirationstag ermittelt. Der Wert für den zweiten Respirationstag ergab sich aus dem arithmetische Mittel aus Anfangs- und Endlebendmasse.

Während des Kammeraufenthaltes wurde den Tieren zweimal täglich um 07:00 Uhr und 15:00 Uhr Futter vorgelegt (vgl. Abbildung 3). Noch vor der Fütterung wurden die Tiere um 06:30 und 15:30 Uhr gemolken und die tägliche Milchmenge dokumentiert. Zur Bestimmung der Milchhaltsstoffe erfolgte die Entnahme von Proben aus den Abend- und Morgengemelken, welche vom Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e. V. (LKV) in Güstrow hinsichtlich Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalt mittels Infrarotabsorption analysiert wurden. Die energiekorrigierte Milchmenge (ECM; energy corrected milk yield) wurde mit der Formel nach REIST et al. (2002) berechnet.

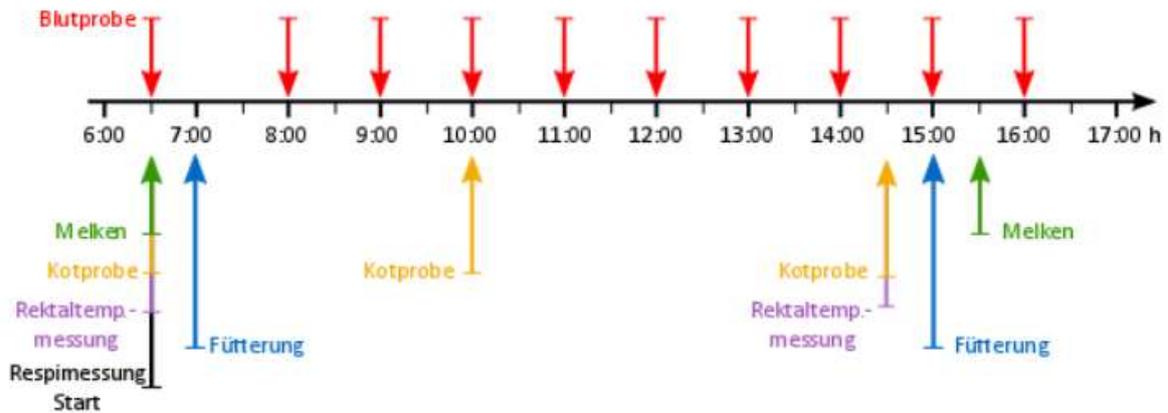


Abbildung 3. Zeitstrahl eines Tagesablaufs an den Respirationstagen (ZIESLER, 2013).

Während der Gaswechsellmessungen wurde dreimal täglich circa 300g Kot durch Entnahme aus dem Mastdarm gewonnen (06:30, 10:00 und 15:00 Uhr). Die Kotgreifproben wurden 48 Stunden bei 60°C getrocknet, anschließend auf ≤ 1mm Partikelgröße vermahlen und in luftdicht verschlossenen Gefäßen bei Raumtemperatur gelagert. Die Isolierung von Archaeol aus den Kotproben und die Bestimmung der Archaeolkonzentration wurde mittels gaschromatografisch-massenspektrometrischer Analyse am Institut für Ernährungsphysiologie ‚Oskar Kellner‘ (FBN) durchgeführt (GÖRS et al., 2016, vgl. Schlussbericht MethanA, FBN Dummerstorf).

Mit Hilfe der SAS-Prozedur GLM wurde zunächst überprüft, ob sich die Methanproduktion sowie assoziierte Merkmale in Abhängigkeit von i) Laktationsstadium bzw. Ration und ii) Laktationsnummer signifikant ($P \leq 0,05$) unterschieden. Anschließend wurde eine einfache lineare Regressionsanalyse angewandt, um die Beziehung zwischen 24-h-Methanbildung (L/d) und dem Gehalt an fäkalem Archaeol aus drei täglichen Proben ($\mu\text{g/g}$ Kot-TM) mittels der Prozedur REG in SAS zu analysieren. Relevante fixe Einflussfaktoren sowie mögliche Korrelationen zwischen den wiederholten Messungen am gleichen Tier wurden dabei im Modell mitberücksichtigt.

Das folgende Modell wurde verwendet, um gleichzeitig den Einfluss der Ration und des Laktationsstadiums für die Beziehung zwischen Methan und Archaeol zu schätzen:

$$Y_{ij} = \mu + \text{trial}_i + b \times x_{ij} + e_{ij},$$

y_{ij} = Merkmal Methan als abhängige Variable, dargestellt als CH_4 L / kg TMA, CH_4 pro kg Milch, CH_4 pro kg ECM, CH_4 pro kg Stärkeaufnahme, CH_4 pro kg Rohproteinzufuhr, CH_4 pro kg Rohfettaufnahme, CH_4 pro kg Rohfaseraufnahme, CH_4 pro kg Säure Detergenzienfaser (ADF) Aufnahme,

CH₄ pro kg neutrale Detergenzienfaser (NDF) Aufnahme und CH₄ pro kg
Zuckeraufnahme

μ = allgemeiner Mittelwert

trial_i = fixer confoundeter Effekt von Rationstyp und Laktationsstadium ($i = 2$)

b = Regressionskoeffizient für abhängige Variablen auf Archaeolkonzentration

x_{ij} = Kovariate der Archaeolkonzentration innerhalb des Versuches i

e_{ij} = zufälliger Resteffekt.

Die Regressionskoeffizienten wurden auch separat für die zwei Kammerversuche geschätzt, aber nur im Falle von signifikanten Unterschieden auch unterschiedlich behandelt. Darüber hinaus wurde eine univariate Analyse der Varianz auf Trockenmasseaufnahme und Wasseraufnahme für die Merkmale Methanproduktion und fäkale Archaeolkonzentration angewendet. Die Annahme der statistischen Signifikanz des Modells erfolgte bei $P < 0,05$.

2.2 Praxisversuch – Zweite Projektphase

Für die an die erste Projektphase anschließenden Untersuchungen zum fäkalen Archaeolgehalt in der Praxis wurden auf dem Versuchsbetrieb Karkendamm des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel zwischen Januar 2014 und August 2015 von 42 Kühen (12 Reservetiere) der Rasse Deutsche Holstein in den Laktationen 1, 2 sowie 3 wiederholt Kotproben im Verlauf der Laktation gesammelt (Zeitraum: Beginn kurz vor der Kalbung bis zehn Tage nach dem Trockenstellen, s. Abb. 4). Die routinemäßige Datenerfassung auf dem Versuchsbetrieb beinhaltet die Parameter tägliche Milchmenge, Futteraufnahme, Lebendmasse, wöchentliche Milchinhaltstoffe und monatlicher Body Condition Score (BCS). Zweimal täglich wurde eine Mischration ad libitum vorgelegt. Da nicht-laktierende Kühe getrennt von laktierenden Tieren in einem anderen Stallkomplex gehalten werden, waren die Futteraufnahme-Daten, welche mit Hilfe von Futterwiegetrögen generiert werden, ausschließlich während der Laktation verfügbar. Die Futtertröge sind mit einem individuellen Kuhidentifikationssystem ausgestattet, sodass jeder Besuch erkannt und routinemäßig aufgezeichnet wurde. Die Mengen der täglichen Futteraufnahme wurden akkumuliert. Die Beobachtungswerte wurden nur dann berücksichtigt, wenn sie zwischen den 0,5 % niedrigsten und 0,5 % höchsten Werten für die Trockenmasseaufnahme lagen. Die Tiere erhielten bis zum 180. Laktationstag zusätzlich zur Mischration eine konstante Menge Kraftfutter über Futterautomaten mit Tiererkennung, danach wurden leistungsangepasste Mengen an Konzentratfutter zugeteilt. Die Hauptkomponenten der TMR waren Maissilage (36 ±3 %) und Grassilage (25 ±2 %). Die

Rationszusammensetzung für die Laktationsphase unterschied sich von jener in der Trockenstehphase. Die Variation der Anteile der Rationskomponenten ist in Tabelle 4 angegeben. Die Kühe wurden zweimal täglich um 05:00 und 16:00 Uhr gemolken. Für die Analyse der Milchzusammensetzung (Milchfett, Protein und Lactose) mittels Infrarotabsorption wurden einmal wöchentlich Milchproben des Nachmittags- und Morgengemelkes vom LKV, Schleswig-Holstein analysiert. Die Milchzusammensetzung pro Tag wurde durch Gewichtung der Analysewerte mit der jeweiligen Milchmenge pro Tag geschätzt. Zur Berechnung der energiekorrigierten Milchleistung (ECM) wurde folgende Formel von KIRCHGESSNER (2007) verwendet: $ECM (kg) = (0,39 * \text{Fett-\%} + 0,24 * \text{Protein-\%} + 0,17 \text{ Lactose-\%}) * \text{Milchleistung (kg)} / 3,17$. Kot wurde zu definierten Zeitpunkten durch rektale Greifproben (~200g) jeweils vormittags (i.d.R. zwischen 9:00 und 11:00 Uhr) aus dem Mastdarm entnommen und anschließend im Trockenschrank für 48 Stunden bei 60°C getrocknet. Das Schema der Probenentnahme zeigt Abbildung 4.

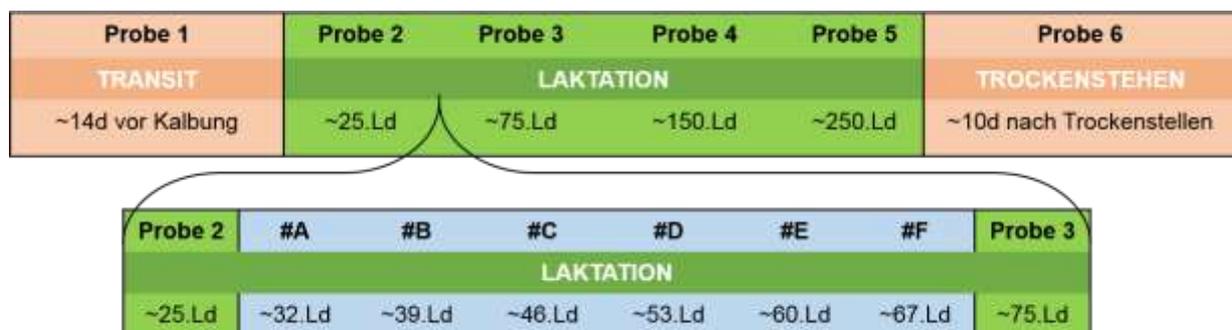


Abbildung 4. Zeitstrahl des normalen Entnahmeschemas von Kot bei allen Milchkühen (Proben 1 - 6) und des engmaschigen Entnahmeschemas (Proben #A - #F) bei einer kleineren Kohorte von 18 Kühen zur Archaeolanalyse im Produktionszyklus.

Die Archaeolanalyse wurde am Institut für Ernährungsphysiologie "Oskar Kellner" des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie (FBN) Dummerstorf durchgeführt und das Vorgehen von GÖRS et al. (2016) etabliert und beschrieben. Die mit SAS durchgeführte statistische Datenaufbereitung und Analyse erfolgte mit den Prozeduren MEANS, UNIVARIATE, MIXED und CORR (SAS Institute, 2013).

Die Modelltestung wurde mit der SAS-Prozedur MIXED und der Restricted Maximum Likelihood Methode (REML) durchgeführt. Als Vergleichskriterien für die Modellgüte wurden AICC (Akaike-Informationskriterium, HURVICH und TSAI, 1989) und BIC (Bayes'sches Informationskriterium, SCHWARZ, 1978) herangezogen und das Modell mit dem niedrigsten Wert für AICC und BIC wurde ausgewählt. Es wurden die Laktationsnummer (n = 3), der Laktationstag und die Saison (n = 4) als feste Effekte in das Modell aufgenommen. Die Saison wurde in vier Klassen unterteilt (Januar - März, April - Juni, Juli - September, Oktober - Dezember). Das endgültige allgemeine lineare Mischmodell für die fäkale

Archaeolkonzentration einschließlich der festen Effekte und des zufälligen Tiereffektes lautet wie folgt:

$$y_{ijklmn} = \mu + LA_i + LD_j + S_k + (LD_j \times S_k)_{jkl} + t_m + e_{ijklmn}$$

y_{ijklmn} = Beobachtungen für fäkale Archaeol-Konzentration ($\mu\text{g/g}$ Kot-TM)

LA_i = fixer Effekt der i-ten Laktationsnummer ($i = 1, \dots, 3$)

LD_j = fixer Effekt des j-ten Laktationstages ($j = 20, \dots, 255$)

S_k = fixer Effekt der k-ten Saison ($k = 1, \dots, 4$),

$(LD_j \times S_k)_{jkl}$ = fixer Effekt der l-ten-Interaktion zwischen dem j-ten Laktationstag und der k-ten Saison

t_m = zufälliger Effekt der m-ten Kuh ($m = 1, \dots, 31$)

e_{ijklmn} = zufälliger Resteffekt.

Da der fixe Effekt des Testtags (Laktationstag zum Zeitpunkt der Probennahme) für mehrere Merkmale signifikant war, bildete das Model die Grundlage zur Schätzung von Least Square Mittelwerten für die Archaeolausscheidung im Verlauf der Laktation sowie in der vor- und nachgelagerten Trockenstehperiode, welche mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur auf signifikante Unterschiede getestet wurden.

Da die Wiederholbarkeit als obere Grenze der Heritabilität gilt, kann sie Aufschlüsse über die genetische Determinierung des Merkmals Archaeol und die Möglichkeiten für eine züchterische Bearbeitung, liefern. Die Wiederholbarkeit wurde als die Varianz zwischen den Kühen geteilt durch die Summe der Varianz zwischen und innerhalb der Kühe berechnet.

$$W = \sigma^2_k / (\sigma^2_k + \sigma^2_e)$$

W = Wiederholbarkeit

σ^2_k = Varianz zwischen Kühen

σ^2_e = Restvarianz.

Mit der SAS-Prozedur CORR (SAS-Institut, 2013) wurden für die abhängigen Merkmale Archaeol, Milchleistung, energiekorrigierte Milchleistung und Archaeol pro Liter Milch die tierbedingten Effekte geschätzt und anschließend tierbedingte wie auch phänotypische Korrelationen geschätzt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Auswertung Kammerversuch – Erste Projektphase

Die Fütterung zweier totaler Mischrationen mit unterschiedlichem Stärkegehalt (178 g/kg TM vs. 99 g/kg TM) hatte nur tendenziell signifikanten Einfluss auf den Methanausstoß. Die tägliche Methanproduktion (l/d, l/kg TM, l/kg Milch, l/kg ECM) nahm mit Fütterung der stärkereichen Ration ab. Die Fütterung der stärkereichen Ration bewirkte eine Steigerung der Milchmenge, des Milcheiweißgehalts sowie der energiekorrigierten Milchmenge (s. Tabelle 3).

Tabelle 3. Least Square Mittelwerte ausgewählter Merkmale für den fixen Effekt des Versuchs (Laktationsphase/Ration).

Merkmal	Versuch		SED	P-Wert
	100.±3 Ld/ SR	135.±3 Ld/ FR		
Trockenmasseaufnahme (TMA), kg/d	16,3	14,8	1,43	0,312
Wasseraufnahme, l/d	65,9	62,5	3,58	0,511
Milchleistung, kg/d	30,8	25,0	2,26	0,019
Energiekorrigierte Milchleistung (ECM), kg/d	34,4	27,6	2,35	0,011
Milchfettgehalt, %	4,69	4,66	0,31	0,948
Milchproteingehalt, %	3,40	3,07	0,08	0,010
Methanproduktion, l/d	520	559	81,1	0,077
Methanproduktion pro TMA, l/kg TMA ¹	33,2	36,9	1,93	0,001
Archaeolkonzentration, µg/g Kot-TM	37,1	47,6	2,85	0,002
Geschätzte Archaeolausscheidung, g/d	0,6	0,7	0,5	0,210
Methanproduktion pro Archaeol, l/d / µg/g Kot-TM	14,3	11,8	0,78	0,034
Methanproduktion pro Archaeol, l/kg TMA / µg/g Kot-TM	0,88	0,80	0,03	0,166
Methanproduktion pro kg Milch, l/kg ¹	17,2	22,4	2,02	0,019
Methanproduktion pro kg ECM, l/kg ¹	15,8	20,5	2,47	0,079
Methanproduktion pro Nettoenergie Laktation, l/MJ NE _L ¹	4,62	5,51	0,17	0,006
Methanproduktion pro Stärkeaufnahme, l/kg TM Stärke ¹	191	375	16,7	0,001
Methanproduktion pro Rohfettaufnahme, l/kg TM Fett ¹	766	137	38,8	0,001
Methanproduktion pro Rohproteinaufnahme, l/kg TM Protein ¹	181	212	6,77	0,012
Methanproduktion pro Rohfaseraufnahme, l/kg TM Faser ¹	195	194	6,66	0,942
Methanproduktion pro ADF-Aufnahme, l/kg TM ADF ¹	158	180	5,85	0,032
Methanproduktion pro NDF-Aufnahme, l/kg TM NDF ¹	102	105	3,57	0,564
Methanproduktion pro Zuckeraufnahme, l/kg TM Zucker ¹	661	604	21,7	0,116

² Die fäkale Archaeolkonzentration wurde im Model berücksichtigt.

Die mittlere fäkale Archaeolkonzentration betrug 42,4 µg / g Kot-TM (SD = 8 µg / g Fäkes). Die beobachteten Minima und Maxima betragen 23,5 und 77,2 µg / g Kot-TM. Die im Projekt MethanA determinierten Werte sind höher als bei GILL et al. (2011) (Konzentrat-basiert: 5,1; Grassilage-Basis: 30,6 µg / g Kot-TM), MCCARTNEY et al. (2013b) (Mittelwert 9,2 µg / g fäkale TM) und SCHWARM et al. (2015) (Mittel 16,8 µg / g fäkale TM). Die Variation der fäkalen Archaeolgehalte zwischen den Studien ist wahrscheinlich auf Unterschiede bezüglich des Niveaus der Futteraufnahme, des Konzentrat- und Faser-Verhältnisses sowie der Rationszusammensetzung, der Rassen, des Leistungsniveaus und des Alters der Tiere zurückzuführen. Zudem ist die Archaeolanalyse-Methodik ein weiterer Faktor welcher Variationen bedingen kann. In der Studie von MCCARTNEY et al. (2013b) wurden Holstein-Friesian und Jersey x Holstein Färsen in der frühen und mittleren Laktation mit deutlich niedrigerer Milchleistung und Trockenmasseaufnahme als in der vorliegenden Studie untersucht. Die Trockensubstanzaufnahme in den Studien von GILL et al. (2011) und SCHWARM et al. (2015) waren ebenfalls geringer. GÖRS et al. (2016) zeigten, dass die Probenextraktion mit dem Soxhlet-Verfahren doppelt so effizient war, was zumindest teilweise die in der vorliegenden Studie beschriebenen höhere Archaeolgehalte im Kot erklären könnte. In Übereinstimmung mit GILL et al. (2011) und SCHWARM et al. (2015) führte die Fütterung mit geringerem Stärkeanteil und höherem Fettgehalt (SR) zu signifikant niedrigeren Archaeolgehalten ($P = 0,002$) sowie niedrigerer Methanproduktion (CH_4 l/kg TMA; $P = 0,001$). Die Studie beeinflusste auch die Milchleistung und die Methanintensität (CH_4 / kg Milch; $P < 0,05$, Tabelle 3). Die tägliche Methanproduktion (CH_4 l/d) war während der Fütterung der SR Ration tendenziell geringer zu sein ($P = 0,077$). Es konnte bereits in anderen Studien gezeigt werden, dass Rationen, die reich an Stärke und Fett sind, die Methanemission von Kühen reduzieren (JOHNSON und JOHNSON, 1995; VAN GASTELEN et al., 2015; BENCHAAR et al., 2015).

Aktuell existieren nur wenige Studien zu Archaeol als potenzieller Biomarker für Methanemissionen bei Rindern. Unsere lineare Regressionsanalyse für die tägliche Methanproduktion und den durchschnittlichen fäkalen Archaeolgehalt von drei über den Tag gewonnenen Stichproben zeigte eine positive, aber schwache Beziehung ($R^2 = 0,16$), die tendenziell signifikant war ($P = 0,07$; $n = 20$; s. Abbildung 5). Eine ähnlich schwache Beziehung wurde auch von SCHWARM et al. (2015) beobachtet ($R^2 = 0,19$, $P = 0,08$, $n = 14$).

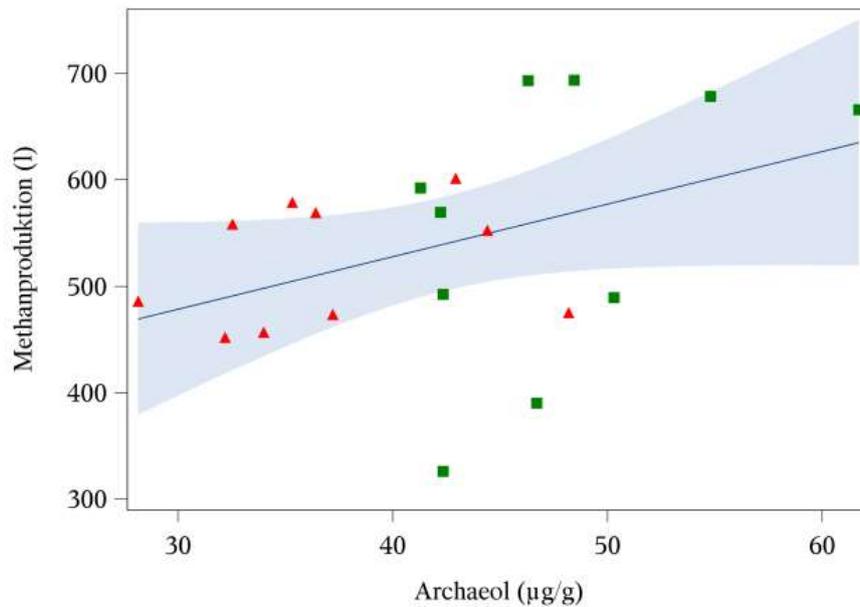


Abbildung 5. Regression der Methanproduktion (in l) auf den Archaeolgehalt im Kot (in µg/g) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.

Die Wasseraufnahme beeinflusste die Methanproduktion signifikant ($P < 0,001$), der Archaeolgehalt im Kot wurde nicht von der Wasseraufnahme beeinflusst ($P = 0,842$). Die Trockenmasseaufnahme erklärte 58 % der Variation der täglichen Methanproduktion ($P < 0,001$), hatte jedoch keinen Einfluss auf den fäkalen Archaeolgehalt ($P = 0,78$) in dieser Studie.

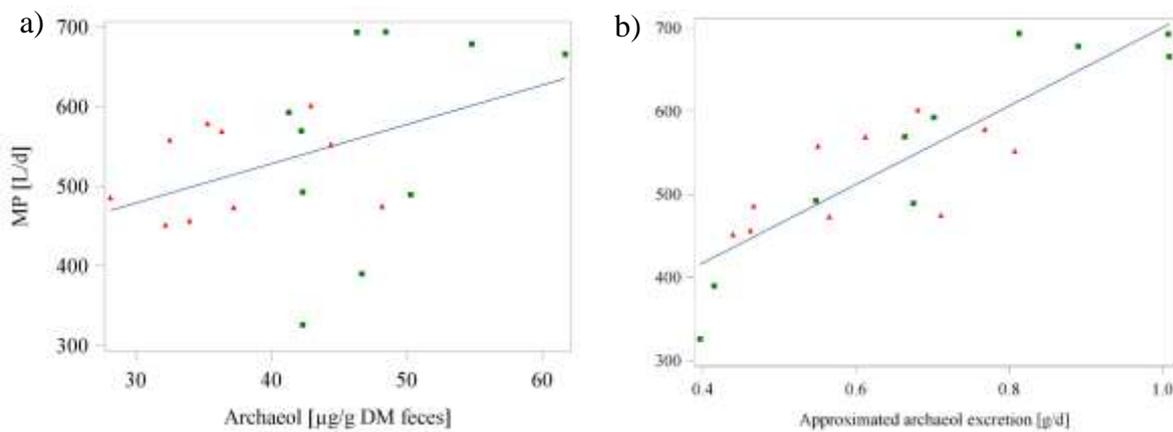


Abbildung 6a und 6b. Regression der Methanproduktion (MP, l/d) auf den Archaeolgehalt im Kot (in µg/g und g/d) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.

Mittels Approximation wurde aus den fäkalen Archaeolgehalten und der täglichen Trockenmasseaufnahme die Gesamtarchaeolausscheidung pro Tag geschätzt. Damit konnte eine deutliche Verbesserung der Beziehung beobachtet werden, da 75 % der Variation der

Methanausscheidung erklärt werden konnten ($P < 0,001$, $n = 20$) (s. Abbildung 6a und 6b). Dieses Ergebnis verdeutlichte die Bedeutung von Informationen über Futteraufnahme und den Archaeolgehalt für die Vorhersage von Methanemissionen.

Das Fehlen einer starken Beziehung zwischen dem fäkalen Archaeolgehalt und der Methanproduktion könnte aus einer unterschiedlichen Aktivität methanogener Mikroorganismen entlang der Kompartimente des Verdauungstraktes abgeleitet werden oder aus einer variablen Abundanz von Archaeen im Kot resultieren. Die Beziehung kann außerdem durch die Höhe der Futteraufnahme, die Passagerate, die Futtereffizienz und die nährstoffspezifische Verdauungskinetik beeinflusst werden. Darüber hinaus besitzen Vertreter der neu entdeckten methanogenen Methanomassilicococales-Gruppe statt dem Membranlipid Archaeol Butan- oder Pentantriol-Dibiphytanyl-Tetraetherlipide (BECKER et al., 2016), die mit der von uns angewandten massenspektrometrischen Gaschromatographie nicht analysiert werden konnten. Das Vorkommen dieser Methanogenen wurden in Wiederkäuern beobachtet (HENDERSON et al. 2015; KELLY et al., 2016), jedoch ist ihre Physiologie und quantitative Bedeutung noch unklar. Demnach könnte möglicherweise ein Teil der Variation durch den unbekanntem Beitrag von Methanomassilicococales zu methanogenen Lipidkonzentrationen erklärt werden. Eine andere Quelle für die beobachtete Variation kann die Art und Weise der Kotprobenentnahme sein. In den verschiedenen Studien erfolgte die Probenentnahme zum einen als quantitative Sammlung über sechs Tage (MCCARTNEY et al. 2013b), zum anderen durch Poolen einzelner Proben über mehrere Tage (GILL et al., 2011) oder Poolen mehrerer 24-Stunden-Proben über eine Woche (SCHWARM et al., 2015). Im Gegensatz dazu wurden in unserer Vorstudie drei Kotproben zu unterschiedlichen Tageszeiten entnommen (06:30, 10:00 und 14:30 Uhr). Eine vollständige Fäkaliensammlung für 24 Stunden oder eine Probenahme über mehrere Tage ist unter landwirtschaftlichen Bedingungen an einer großen Tierzahl nicht zu realisieren, insbesondere da die Akzeptanz von Methoden mit hohem Arbeitsaufwand und ohne Produktionsvorteile bei Landwirten wahrscheinlich gering sein würde (HRISTOV et al., 2013). Bei Routineuntersuchungen an Einzeltieren wäre die Gewinnung einer geeigneten Einmal-Stichprobe, aus welcher der Archaeolgehalt analysiert wird, am besten geeignet.

Betrachtete man nur eine einzelne Probe des Tages und führte eine Regressionsanalyse durch, so konnte in unserer Untersuchung das höchste Bestimmtheitsmaß für die um 10 Uhr entnommenen Kotproben beobachtet werden ($R^2 = 0,23$, $P = 0,03$), während zu den anderen Tageszeiten wesentlich niedrigere Beziehungen ermittelt wurden ($R^2 = 0,04$ um 06:30 Uhr, $R^2 = 0,02$ um 14:30 Uhr). In Anbetracht des Resultates, dass sich die vergleichsweise engste Beziehung zwischen der Methanproduktion und dem fäkalen Archaeolgehalt mit der 10 Uhr Kotprobe zeigte, ist der Zeitpunkt der Probenahme von nicht zu unterschätzender Bedeutung. Auch GÖRS et al. (2016) vermuteten bereits, dass der Archaeolgehalt teilweise

von der Zeit der Futteraufnahme abhängen könnte. Je mehr Futter eine Kuh in relativ kurzer Zeit verzehrt, desto höher ist die Passagerate durch den Verdauungstrakt (JENTSCH et al. 2007), wodurch die Kontaktzeit der Archaeen mit den Futterpartikeln und anderen Mikrobiota im Pansen reduziert wird. Es konnte gezeigt werden, dass die Methanemission nicht nur durch die Futterzusammensetzung, sondern auch direkt durch ein Futteraufnahmeereignis stimuliert wird (KUHLA et al., 2015).

Die Trockenmasseaufnahme ist laut FLACHOWSKY und BRADE (2007) ein entscheidender Einflussfaktor für die Höhe der Methanemissionen. GILL et al. (2011) berichteten, dass Tiere, die eine Ration mit ad libitum Konzentratfutter erhielten, weniger Methan bezogen auf Trockenmasseaufnahme freisetzten und ebenso einen geringeren Archaeolgehalt im Kot aufwiesen, als Tiere, die eine Ration basierend auf Grassilage ad libitum erhielten. In unserer Untersuchung konnte die gleiche Beobachtung gemacht werden. Es zeigte sich bei der Analyse der Beziehung zwischen Methanproduktion bezogen auf die Trockenmasseaufnahme (CH_4 l / kg TMA) und dem fäkalen Archaeolgehalt ein signifikanter positiver Zusammenhang mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,53 ($P = 0,001$; $n = 20$) mit der folgenden zugrundeliegenden Gleichung:

$$\text{Methanproduktion (l/kg TMA)} = 20,62 + 0,21 \text{ (SE = 0,12; } p = 0.10) \times \\ \text{fäkaler Archaeolgehalt} + 3.70 \text{ (SE = 1,93; } p = 0.07) \times \text{Versuch.}$$

Da der Versuch (confoundete Effekte von Ration und Laktationsstadium) als fixer Einflussfaktor für die Parameter Methanproduktion zu Trockenmasseaufnahme und Methanproduktion zu Milchleistung einen signifikanten Einfluss zeigte, wurde dieser in der Regressionsanalyse berücksichtigt. Die Umwandlung in eine numerische Variable geschah wie folgt: SR wurde zu ,1' und FR zu ,2' umcodiert. Auch MCCARTNEY et al. (2013) stellten fest, dass sich die Methanausscheidung pro kg Trockenmasseaufnahme bei zusätzlicher Berücksichtigung des Laktationsstadiums besser vorhersagen lässt (Methanproduktion (g/kg TMA) = 13,23 (SE = 1,80) + 0,651 (SE = 0,142) x mg Archaeol/kg Kot-TM + 3,34 (SE = 1,26) x Laktationsstadium; $R^2 = 0,56$; $n = 16$; $p = 0,02$).

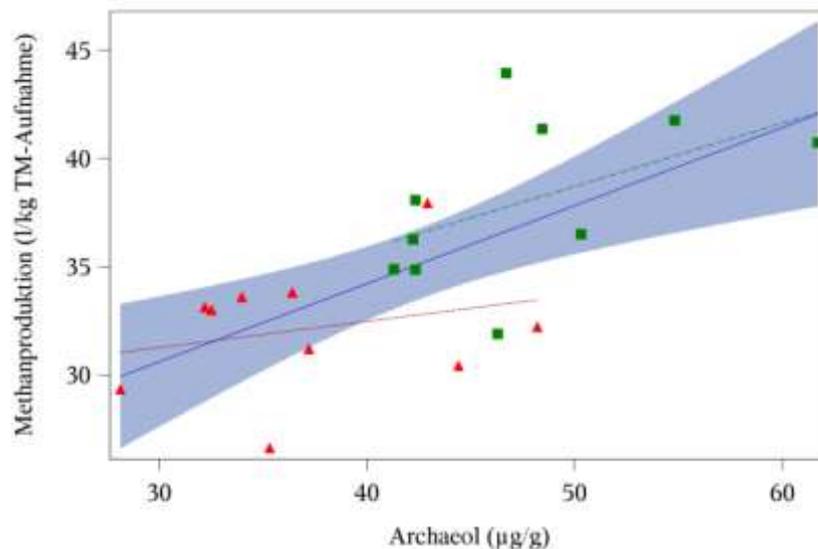


Abbildung 7. Regression der Methanproduktion (l/kg TM-Aufnahme) auf den Archaeolgehalt im Kot (in µg/g) bei Verfütterung einer stärke-reichen (SR, ▲) bzw. faser-reichen (FR, ■) Ration.

Abbildung 7 zeigt die lineare Beziehung zwischen der Methanproduktion bezogen auf die Trockenmasseaufnahme und dem fäkalen Archaeolgehalt mit separaten Regressionsgeraden für die verschiedenen Versuche. Das moderate Bestimmtheitsmaß von 0,53 liegt im ähnlichen Bereich wie bei GILL et al. (2011) ($R^2 = 0,37$) sowie MCCARTNEY et al. (2013b) ($R^2 = 0,56$).

Wenn die Produktivität von Tieren durch Fütterung, Reproduktionsmanagement oder Genetik verbessert wird, verringert sich die Methanemission pro Produkteinheit (BOADI et al., 2004). Daher kann für züchterische Zwecke die Methanproduktion bezogen auf die Milchleistung von besonderem Interesse sein und wird als Methanintensität bezeichnet. Mit steigender Produktivität steigt die Methanemission leicht an, die Emissionsintensität nimmt jedoch ab (MARTIN et al., 2010; MOATE et al., 2016). Unsere Auswertungen unterstützen diese Ergebnisse zumindest teilweise. Die Beziehung der Methanintensität und dem fäkalen Archaeolgehalt wurde in der folgenden Gleichung abgeleitet:

$$\text{Methanintensität (l/kg ECM)} = 15,7 \text{ (SE = 7,36, } p = 0,04) + 0,11 \text{ (SE = 0,15, } p = 0,46) \times \text{ fäkaler Archaeolgehalt} - 4,63 \text{ (SE = 2,47, } p = 0,07) \times \text{ Versuch (} R^2 = 0,40, p = 0,01, n = 19).$$

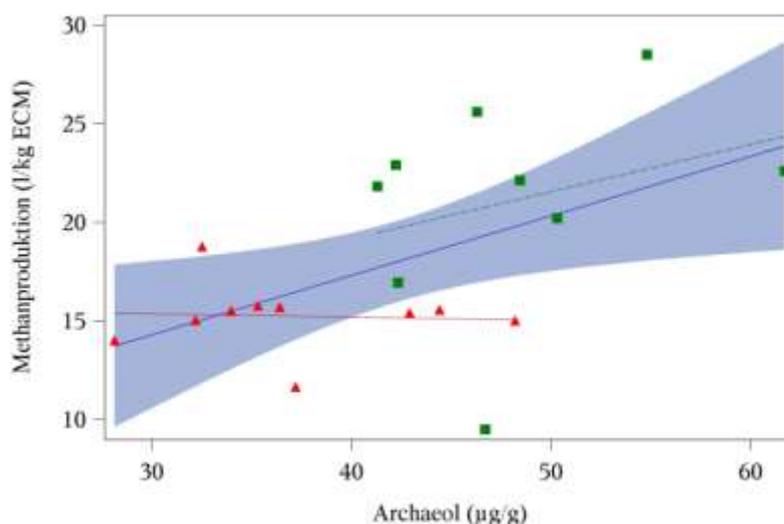


Abbildung 8. Regression der Methanintensität (ECM, l/kg) auf den Archaeolgehalt im Kot (in µg/g) bei Verfütterung einer stärkereichen (SR, ▲) bzw. faserreichen (FR, ■) Ration.

Überraschenderweise konnte bei zunehmender Energiekorrigierter Milchleistung, vermutlich aufgrund höherer Futteraufnahme und entsprechend höherer Stärke- sowie Fettaufnahme ein Verdünnungseffekt für den Archaeolgehalt im Kot im ersten Versuch (SR) beobachtet werden (Abbildung 8). Das bedeutet, diese Analyse offenbarte eine negative Beziehung mit der stärkereichen Ration zum 100. Laktationstag. Schlussfolgernd könnte eine Abnahme der Methanemission pro Produkteinheit, jedoch ein konstant bleiben der fäkalen Archaeolkonzentration diese Beobachtung erklären.

Tabelle 4. Schätzgleichungen ausgewählter Merkmale und die Beziehung zum fäkalen Archaeolgehalt mit dem fixen Effekt des Versuchs (Laktationsphase/Ration).

Methanproduktion in (y _{ij}) ¹	Interzept (µ)	b × µg Archaeol pro g Kot- TM (x _{ij})	Versuch _i ²	Rest (e _{ij})	P-Wert
l/kg Stärkeaufnahme	295,92	1,86	-184,52	0,94	0,001
l/kg Rohfettaufnahme	1075,92	6,98	-605,06	0,92	0,001
l/kg Rohprotein- aufnahme	161,33	1,20	-30,42	0,64	0,001
l/kg Rohfaseraufnahme	145,97	1,13	0,79	0,22	0,118
l/kg ADF-Aufnahme	137,14	1,01	-21,92	0,58	0,001
l/kg NDF-Aufnahme	97,63	0,61	-3,36	0,32	0,035
l/kg Zuckeraufnahme	448,82	3,66	57,53	0,16	0,212
l/MJ Nettoenergie (NE _L)	4,20	0,03	-0,89	0,68	0,001

¹ $y_{ij} = \mu + b \times x_{ij} + \text{Versuch}_i + e_{ij}$.

² Kodierung 1 für erster Kammerversuch zum 100.±3 Laktationstag mit SR-Ration und 2 für zweiten Kammerversuch zum 135.±3 Laktationstag mit FR-Ration.

Eine Reduktion von Methanogenen im Pansen sollte mit einer Reduktion des fäkalen Archaeolgehaltes einhergehen. In einigen, aber nicht allen Studien wurde gezeigt, dass die Häufigkeit von Archaeen im Pansen entweder als mcrA (Methyl-Coenzym-M-Reduktase-α-

Untereinheit) -mRNA oder als 16S-rRNA-DNA-Kopienzahl positiv mit der Methanproduktion korreliert ist (MCCARTNEY et al., 2013a; WALLACE et al., 2014; CASANAS et al., 2015). Im Gegenzug kann davon ausgegangen werden, dass der Archaeolgehalt und die Abundanz vom Archaeen im Pansen in Beziehung stehen sollten. Jedoch ist diese Beziehung ebenfalls durch Variation gekennzeichnet. Während die Variabilität unter molekularen Archaeaschätzungen wahrscheinlich mit Verzerrungen in "universellen" Archaeaprimern und unterschiedlichen Häufigkeiten von methanogenen Spezies im Pansen zusammenhängt, kann ein Teil der Variation auf Unterschiede im Archaeolgehalt in verschiedenen methanogenen Zellen zurückzuführen sein (MCCARTNEY et al., 2013c). Es wurde gezeigt, dass Kot höhere Konzentrationen an Archaeol aufwies als Pansenflüssigkeitsfraktionen oder feste und flüssigkeitsassoziierte Pansenmikroben, und es gab keine signifikante Beziehung zwischen Kot- und Pansen-Archaeolkonzentrationen (MCCARTNEY et al., 2014; GÖRS et al., 2016). GÖRS et al. (2016) vermuteten, dass dieser Unterschied auf die Akkumulation von Archaeen zurückzuführen ist, die nicht nur im Pansen, sondern auch im Dün- und Dickdarm vorzufinden sind. FREY et al. (2010) berichteten, dass der Beitrag der Archaeen zu den Prokaryonten insgesamt im Pansen-Darmtrakt mit 5, 1, 4,5 und 1,3 % für Pansen, Zwölffingerdarm, Ileum und Kot divergierte. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass - wenngleich auf einem niedrigeren Niveau - der Darmtrakt ebenso zur Methanproduktion beiträgt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Archaeol ein assoziiertes Merkmal der ruminalen Methanogenese darstellt, jedoch nicht einfach in der Zucht als Hilfsmerkmal implementiert werden kann, da unter anderem die Rationsgestaltung, die tierindividuelle Futteraufnahme und der Zeitpunkt der Kotprobenentnahme berücksichtigt werden müssen. Es besteht ein höherer Forschungsaufwand, einschließlich größerer Tierzahlen und wiederholten Beprobungen, um das generierte Wissen über die Variation der Archaeolausscheidung auszubauen und nutzbar zu machen. Insbesondere bestehen kaum Kenntnisse über die Wechselwirkungen und möglichen genetischen Zusammenhänge zwischen Futteraufnahme und -zusammensetzung, Methanausstoß, Archaeolausscheidung und Milchproduktion sowie anderen funktionellen Merkmalen. Um die Robustheit, Genauigkeit und Wiederholbarkeit von Archaeol als potenzieller Biomarker für die Methanproduktion zu ermitteln, schloss sich an diese Untersuchung daher eine Datenerhebung in Praxis auf dem Versuchsbetrieb Karkendamm an.

3.2 Praxisversuch – Zweite Projektphase

Im Praxisversuch auf Karkendamm wurde eine starke Variation der Archaeolausscheidung zwischen aber auch innerhalb der Tiere festgestellt (s. Abbildung 9). Die geringste im Kot detektierte Archaeolkonzentration betrug in dieser Untersuchung 12 μg , die größte 59,7 μg (vgl. Tabelle 5).

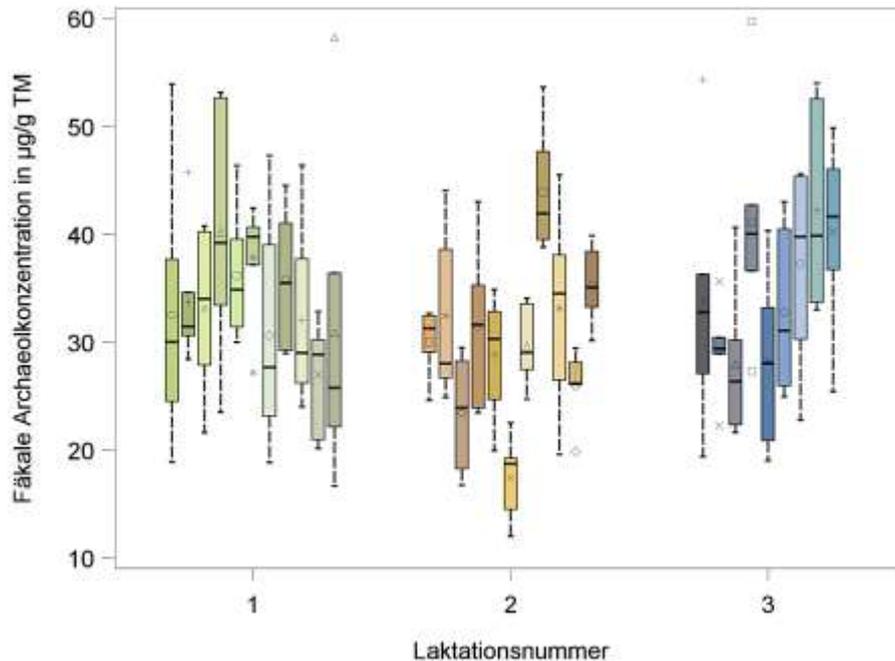


Abbildung 9. Boxplots der fäkalen Archaeolgehalte für die Einzeltiere farblich gruppiert nach Laktationsnummer.

Tabelle 5. Deskriptive Statistik ausgewählter Merkmale für die 31 Kühe der 1. bis 3. Laktation.

Merkmal	1. Laktation				2. Laktation				3. Laktation			
	\bar{x}	s	Min	Max	\bar{x}	s	Min	Max	\bar{x}	s	Min	Max
Archaeolgehalt ($\mu\text{g/g}$ Kot-TM)	33,6	9,1	16,6	58,3	30,4	8,3	12,0	53,6	34,8	9,7	19,0	59,7
Milchleistung (l)	33,2	4,5	12,7	54,2	40,1	8,9	12,3	64,8	36,1	9,2	12,2	62,2
Fettgehalt (%)	3,6	0,5	2,4	5,8	3,5	0,7	1,8	6,0	3,7	0,6	2,3	6,3
Eiweißgehalt (%)	3,3	0,2	2,7	4,3	3,3	0,3	2,3	4,6	3,2	0,3	2,4	4,1
Archaeol/Milch ($\mu\text{g/g/l}$)	0,9	0,2	0,4	1,8	0,6	0,2	0,2	1,6	1,0	0,6	0,4	2,9

In der 2. Laktation zeigte sich ein höheres Milchleistungsniveau im Vergleich zur 1. und 3. Laktation. Die Archaeolausscheidung verhielt sich genau entgegengesetzt. Das mittlere Niveau wie auch die Spannweite des Archaeolgehalt im Kot unterscheidet sich zwischen den Laktationen deutlich (vgl. Abbildungen 9 und 10).

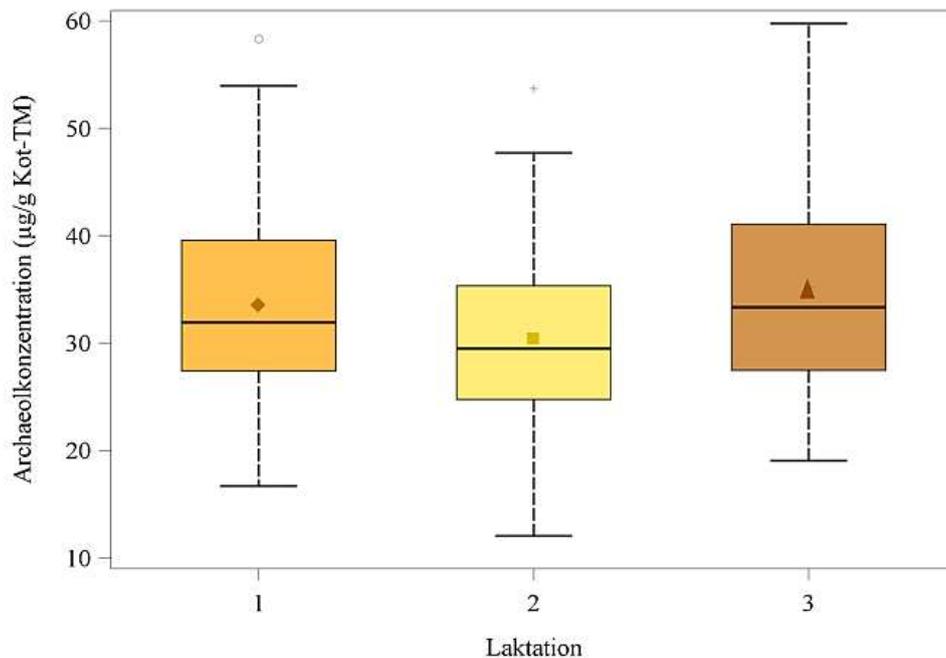


Abbildung 10. Variation der fäkalen Archaeolgehalte nach Laktationen.

Mit fortschreitendem Laktationstag (Probe 2-5) kommt es, wie in Abbildung 11 ersichtlich wird, in allen drei Laktationen im langfristigen verlauf zu einem Anstieg der Archaeolkonzentration im Kot. Eine Verringerung insbesondere des Stärkeanteils in der Ration als Reaktion auf mit zunehmendem Laktationstag sinkende Leistungen hat eine vermehrte Aktivität methanogener Archaeen zur Folge, sodass nach Ableben der Mikroben im Pansen mehr Archaeol mit dem Kot ausgeschieden wird.

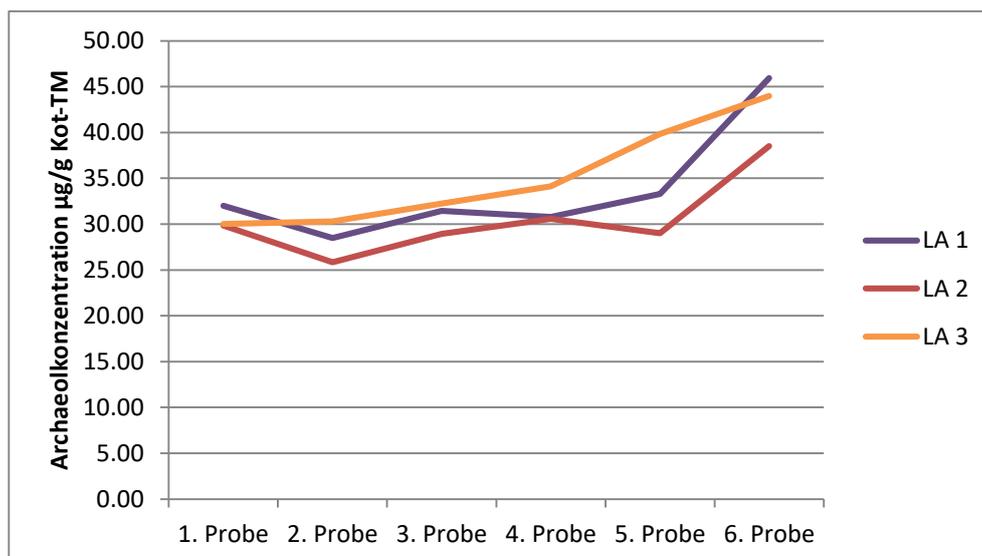


Abbildung 11. Mittlerer Verlauf der fäkalen Archaeolgehalte für Tiere in den Laktationen (LA) 1, 2 sowie 3.

Es zeigt sich insgesamt das geringste Ausscheidungslevel bei Tieren der zweiten Laktation, welche jedoch das höhere Milchleistungsniveau zeigten (vgl. Tabelle 5 und Abbildung 12). Die Verläufe der LSQ-Mittelwerte für die Archaeolausscheidung über den Zeitraum kurz vor der Kalbung bis 10 Tage nach Ende der Laktation zeigt Abb. 12. Mit fortschreitendem Laktationstag kommt es in allen drei Laktationen zu einem nicht stetigen Anstieg der Archaeolkonzentration im Kot. Nach dem Trockenstellen und der damit eingeleiteten Verringerung der Kraftfutterzufuhr nimmt die Archaeolausscheidung deutlich zu. Das insgesamt geringste Niveau zeigen Tiere der 2. Laktation wobei gerade hier die höchsten Milchleistungen beobachtet werden konnten. Die vorliegende Untersuchung gibt interessante Aufschlüsse über den Verlauf der Archaeolausscheidung der in praxi untersuchten Subpopulation.

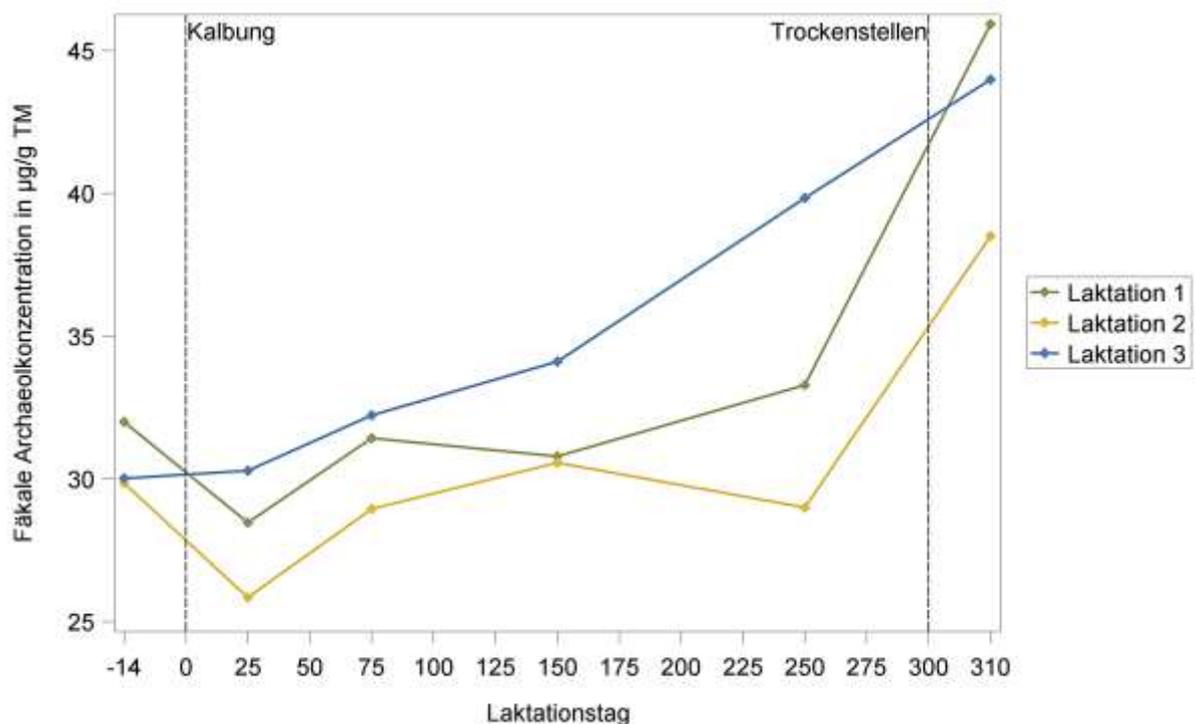


Abbildung 12. Least Square Mittelwerte der fäkalen Archaeolkonzentration in µg pro g Trockenmasse im Kot für die Laktation dargestellt im Produktionsverlauf.

Es konnte ein hoch signifikanter Einfluss des Zeitpunktes der Probenahme in der Laktation bzw. zur Trockenstehphase auf den fäkalen Archaeolgehalt festgestellt werden. Die Kovarianz für das k-te Tier T_k beträgt 20,42 und für den Resteffekt e_{ijk} 43,50. Die Wiederholbarkeit für das Merkmal fäkale Archaeolkonzentration beträgt 32 %. Der mit Abstand größte Least Square Mittelwert (LSM) konnte zehn Tage nach dem Trockenstellen beobachtet werden (siehe Tabelle 6). Auf Grund dessen gilt es zu untersuchen, ob die

Beobachtungen in der Laktation und in den Trockenstehphasen das gleiche Merkmal abbilden, es sich lediglich um Fütterungseffekte handelt oder eine Kombination aus beiden.

Tabelle 6. Least Square Mittelwerte für das Merkmal fäkaler Archaeolgehalt nach Zeitpunkt der Probennahme.

Merkmal	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Archaeolgehalt, µg/g Kot-TM	30,78	28,33	31,00	31,90	34,13	43,03
Milchleistung, kg	-	42,52	43,60	37,96	31,26	-

Während der Laktation (Proben 2-5), steigt die fäkale Archaeolkonzentration, während die Milchleistung sinkt. Die Korrelation der tierbedingten Effekte spiegelt diese Beobachtung ebenso wieder, obgleich das Ergebnis nicht signifikant verschieden von Null ist, was auf die geringe Anzahl Beobachtungen zurückzuführen sein könnte (vgl. Tabelle 6 und 7).

Tabelle 7. Korrelation tierbedingter Effekte nach Pearson.

Merkmal	Archaeolgehalt	Archaeol/Milchleistung	ECM
Milchleistung, kg	-0,29 ^a	-0,61*	0,85**
ECM, kg	-0,28 ^b	-0,54*	-
Archaeolgehalt/Milchleistung	0,78**	-	-

^a $P = 0,1170$ ^b $P = 0,1202$ * $P \leq 0,001$ ** $P \leq 0,0001$

Unsere Untersuchung gibt interessante Aufschlüsse über den Verlauf der Archaeolausscheidung der *in praxi* untersuchten Subpopulation. Die beobachtete moderate Wiederholbarkeit (Maß für die obere Grenze der Heritabilität) gibt Hinweise darauf, dass das Merkmal Archaeol genetisch reguliert sein könnte. In weiteren Untersuchungen soll basierend auf den bis dato gewonnenen Erkenntnissen die Bedeutung von weiteren Einflussfaktoren ermittelt werden, wie beispielsweise die mikrobielle Zusammensetzung des Pansens.

4. Voraussichtlicher Nutzen der Erkenntnisse

Die signifikante Beziehung zwischen dem fäkalen Archaeolgehalt und dem Methanausstoß bezogen auf die Trockenmasseaufnahme bekräftigte zunächst die Annahme, dass Archaeol als Biomarker für die Methanogenese bei Wiederkäuern Anwendung finden könnte. Jedoch besteht die Möglichkeit, die Futteraufnahme tierindividuell zu erfassen zumeist nur Versuchseinrichtungen. Dies stellt eine große Limitierung für die Anwendbarkeit in der Praxis dar. Da maximal 53,4 % der Variation in der Methanausscheidung erklärt werden konnten, sollten parallel zu Archaeol andere, möglicherweise besser geeignete Indikatormerkmale genauer auf ihre Eignung hin untersucht werden.

Die gewonnenen neuen Erkenntnisse zur Beziehung zwischen der fäkalen Archaeolkonzentration und der Methanemission sowie die Parallelen zu bereits publizierten Studien lassen den Schluss zu, dass Archaeol als Biomarker unter Berücksichtigung des derzeitigen Kenntnisstandes nur mit großem Aufwand zur Schätzung der Methanemission herangezogen werden kann. Möglicherweise muss eine Kombination mit weiteren Biomarkern oder Indikatormerkmalen als Hilfsmerkmal für eine Implementierung in der Zucht zur Anwendung kommen (SANDBERG et al., 2017).

Zur Realisierung einer züchterischen Emissionsverringering sind eine Bandbreite weiterer Forschungsbemühungen notwendig. Diese stehen zum gegebenen Zeitpunkt nicht in Relation zu vielversprechenderen Ansätzen zur Methanreduktion, welche mit weitaus weniger Aufwand und höherem Praxispotenzial verfolgt werden. Aus diesem Grunde beläuft sich der Nutzen der Erkenntnisse auf der Feststellung und Beurteilung, dass Archaeol zum gegenwärtigen Zeitpunkt kein belastbares und alleinstehendes Hilfsmerkmal für die Methanemission bei Milchkühen darstellt. Die aktuellen Bestrebungen hinsichtlich einer genomischen Zuchtwertschätzung für die Futteraufnahme könnten die Anwendbarkeit von Archaeol langfristig erleichtern.

Es wurde kein unmittelbar für die landwirtschaftliche Praxis anwendbares Resultat erzielt, da die Praxisreife des untersuchten Biomarkers aktuell nicht gegeben ist. Über die Archaeolausscheidung bei Milchkühen konnten wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. Sie verdeutlichen, welche Herausforderungen die Verwendung von Archaeol als Biomarker an den Anwender stellen würde. Darüber hinaus konnte identifiziert werden, in welchen wissenschaftlichen Bereichen weitere Fragenstellungen zu klären sind. Grundsätzlich bleibt die Frage über die endgültige Eignung von Archaeol als Hilfsmerkmal in der Zucht offen.

5. Gegenüberstellung ursprünglich geplanter und tatsächlich erreichter Ziele

Der für das Projekt MethanA gewählte züchterische Emissionsminderungs-Ansatz, einen nicht-invasiven und daher praxistauglichen Biomarker für Methanemissionen bei Rindern zu untersuchen, stellte gute Voraussetzung für neue praxisrelevante Erkenntnisse dar. Leider kann auf Grundlage unserer Ergebnisse unter aktuell noch gegebenen Wissenslücken empfohlen werden, Archaeol als Biomarker und alleinstehendes Selektionsmerkmal für die tierindividuelle Methanemission zu nutzen.

Die Validierung in Respirationskammern zeigte eine nur schwache Beziehung zwischen der fäkalen Archaeolkonzentration und der Methanausscheidung innerhalb von 24 Stunden. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass noch einer Reihe weiterer Parameter im Zusammenhang mit Archaeol erhoben werden müssten um mit Hilfe dessen im Gesamtkontext der Haltungsumwelt den tierindividuellen Beitrag zur Methanemission besser abschätzen zu können. Hierbei konnten in anderen wie auch in eigenen Untersuchungen die Höhe der Futteraufnahme wie auch die mikrobielle Zusammensetzung der ruminalen Community interessante Hinweise auf entscheidende Einflüsse liefern.

In erster Linie sollte die Verwertung der Ergebnisse durch Publikationen in wissenschaftlichen und populärwissenschaftlichen Fachzeitschriften erfolgen. Auf Grund der fachlichen Kompetenzen der Projektpartner und des Erfahrungsschatzes aus Vorarbeiten auf diesem Gebiet sowie der Relevanz der Fragestellung im Projekt MethanA wurde ein großes Interesse an den Projektergebnissen erwartet. Dies wurde auf wissenschaftlichen Vortragstagungen und bei öffentlichen Veranstaltungen durch stets zahlreiche Zuhörer im Auditorium deutlich, jedoch konnten erste Ergebnisse bislang zum Teil noch nicht international publiziert werden, da die zugewiesenen Gutachter der Fachjournale die Vorarbeit in den Respirationskammern in folgenden Punkten kritisierten: zu geringe Tierzahlen, zu geringer Probenumfang und fehlendes balanciertes Versuchsdesign. Die Relevanz der Entwicklung von Strategien zur züchterischen Bearbeitung des Merkmals ‚Methanproduktion‘ gewann in den letzten drei Jahren zunehmend an Bedeutung (NEGUSSIE et al., 2017). Die generierten Ergebnisse sollen zu internationalen Bemühungen, im großen Maßstab Daten zur individuellen Methanemission von Rindern zu erheben und des Nutzen verschiedener Indikatormerkmale gegeneinander abwägen, beitragen. Die

Arbeitsgruppe um Prof. Thaller steht zu diesem Zweck in engem Austausch mit den Mitgliedern von METHAGENE. Darüber hinaus besteht eine intensive Beteiligung in der ICAR 'Feed and Gas Working Group', welche sich mit der Datenversammlung und Etablierung einer genomischen Zuchtwertschätzung für die Futteraufnahme sowie Methanbildung befasst.

6. Zusammenfassung

Das im Verdauungstrakt von Wiederkäuern produzierte Methan ist als Endprodukt anaerober Nahrungsumsetzung vom Tier nicht weiter verwertbar. Daher wird es ausgestoßen und stellt eine globale Belastung für das Klima dar. Aus diesen Gründen werden Versuche zur Senkung der Methanemission von Wiederkäuern mit unterschiedlichen Ansätzen verfolgt. Ziel des Projektes MethanA war die Untersuchung eines im Kot detektierbaren Markers für die Methanemission und im Rahmen dessen die Evaluierung und Bewertung von Archaeol als Hilfsmerkmal für die Zucht auf verminderte Methanproduktion beim Rind.

In eigener Vorarbeit wurden bei zehn Kühen Gaswechsellmessungen in Respirationsskammern mittels zweier Durchgänge und Fütterung zweier verschiedener Rationen durchgeführt. Es zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Versuchsdurchlaufs, welcher aus dem Effekt des Laktationsstadiums (100. vs. 130. ± 3 Laktationstag) sowie aus dem Effekt der Ration (stärkereich vs. faserreich) bestand. Im ersten Respirationssversuch zum 100. Laktationstag wurde eine stärke- und fettreiche Ration verabreicht (178 g Stärke/kg Trockenmasse (TM), 44 g Fett/kg TM) und ad libitum gefüttert. Im zweiten Durchlauf zum 135. Laktationstag erhielten die Kühe eine stärke- und fettreduziertere Ration (99 g Stärke/kg TM, 27 g Fett/kg TM). Die Methanproduktion (l/d) wurde für 24 Stunden gemessen, wobei Kotproben für die Archaeol-Analyse um 06:30, 10:00 und 14:30 Uhr entnommen wurden. Die Laktationsnummer des Tieres hatte keinen signifikanten Effekt. Die Beziehung zwischen dem fäkalen Archaeolgehalt und der Methanproduktion zeigte sich relativ schwach linear und nur tendenziell signifikant ($R^2 = 0,16$). Bei Bezug der Methanausscheidung auf Basis der Trockenmasseaufnahme verbesserte sich die Beziehung deutlich ($R^2 = 0,53$). Bei Einzelbetrachtung der Kotproben konnten die um 10:00 Uhr gesammelten Proben die Variation der Methanproduktion am besten erklären ($R^2 = 0,23$).

Im anschließenden Praxisversuch wurde über die Phasen Transit, Laktation und Trockenstehen von 31 Kühen zu festgelegten Zeitpunkten Kotproben entnommen und auf den Archaeolgehalt hin analysiert. Es konnte eine starke Variation der Archaeolausscheidung zwischen aber auch innerhalb der Tiere im Produktionsverlauf beobachtet werden. Die geringste in der Praxis detektierte Konzentration von Archaeol im Kot betrug 12 μg und die höchste Konzentration lag bei 59,7 μg . In der 2. Laktation zeigte sich ein geringeres Konzentrationsniveau an Archaeol im Kot verglichen mit der 1. und 3. Laktation. Der Zeitpunkt der Probenahme in der Laktation bzw. zur Trockenstehphase hatte einen hoch signifikanten Einfluss auf den fäkalen Archaeolgehalt. Die Wiederholbarkeit für das Merkmal fäkale Archaeolkonzentration betrug für alle drei Produktionsphasen 32 %, die Heritabilität für das Merkmal fäkale Archaeolkonzentration ist somit maximal moderat.

7. Literaturverzeichnis

BECKER, K. W., F. J. ELLING, M. Y. YOSHINAGA, A. SÖLLINGER, T. URICH, and K. U. HINRICHS. (2016): Unusual butane- and pentanetriol-based tetraether lipids in *Methanomassiliicoccus luminyensis*, a representative of the seventh order of methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 82:4505-4516.

BENCHAAR, C., F. HASSANAT, R. MARTINEAU, and R. GERAUIS. (2015): Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. *J. Dairy Sci.* 98:7993-8008.

BOADI, D.A., C. BENCHAAR, J. CHIQUETTE und D. MASSÈ, (2004): Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *J. Anim. Sci.* 84:319-335.

BOADI, D.A., K.M. WITTENBERG und A.D. KENNEDY, (2002): Validation of the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique for measurement of methane and carbon dioxide production by cattle. *J. Anim. Sci.* 82:125-131.

BRADE, W., WIMMERS, K. (2016): Methan-Minderungspotenziale bei Wiederkäuern. *Berichte über Landwirtschaft. Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft.* Band 94, Ausgabe 1.

BUTTCHEREIT, N.; STAMER, E.; JUNGE, W.; THALLER, G., (2010): Evaluation of five lactation curve models fitted for fat:protein ratio of milk and daily energy balance. *J. Dairy Sci.* 93:1702-1712.

CASANAS, M.A., RANGKASENEE, N. KRATTENMACHER, N. THALLER, G. METGES, C.C. und KUHLA, B., (2015): Methyl-coenzyme M reductase A as an indicator to estimate methane production from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:4074-4083.

FLACHOWOSKY, G. und BRADE, W., (2007): Potenziale zur Reduzierung der Methanemissionen bei Wiederkäuern, *Züchtungskunde.* 79:417-465.

GILL, F. L., DEWHURST, R. J., DUNGAIT, J. A., EVERSLED, R. P., IVES, L., LI, C. S. und BULL, I. D. (2010): Archaeol – a biomarker for foregut fermentation in modern and ancient herbivorous mammals?. *Org. Geochem.* 41:467-472.

GILL, F.L. DEWHURST, R.J. EVERSLED, R.P. MCGEOUGH, E. KIELY, P.O. PANCOST, R.D. und BULL, I.D. (2011): Analysis of archaeal ether lipids in bovine faeces. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 166-167:87-92.

GÖRS, S., KUHLA, B. KRATTENMACHER, N. THALLER, G. und METGES, C. (2016): Analytical refinements of the methane indicator archaeol in bovine feces, rumen fluid and feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 99:9313-9318.

DERNO, M., H.G. ELSNER, E.A. PAETOW, H. SCHOLZE und M. SCHWEIGEL, (2009): Technical note: A new facility for continuous respiration measurements in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 92:2804-2808.

GILL, F.L., R.J. DEWHURST, J.A.J. DUNGAIT, R.P. EVERSLED, L. IVES, C.-S. LI, R.D. PANCOST, M. SULLIVAN, S. BERA und I.D. BULL, (2010): Archaeol - a biomarker for foregut fermentation in modern and ancient herbivorous mammals? *Org. Geochem.* 41:467-472.

HAMMOND, K.J., D.J. HUMPHRIES, L.A. CROMPTON, C. GREEN und C.K. REYNOLDS, (2015): Methane emissions from cattle: Estimates from short-term measurements using a GreenFeed system compared with measurements obtained using respiration chambers or sulphur hexafluoride tracer. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 203:41-52.

HAYES, B.J., H.A. LEWIN und M.E.GODDARD, (2013): The future of livestock breeding: genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. *Trends in genetics.* 29:206-214.

HEGARTY, R.S., (2013): Applicability of short-term emission measures for on-farm quantification of enteric methane. *Animal* 7:401-408.

HEGARTY, R.S., J.P. GOOPY, R.M. HERD und B. MCCORKELL, (2007): Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *J. Anim. Sci.* 85:1479-1486.

HRISTOV, A. N., J. OH, J. L. FIRKINS, J. DIJKSTRA, E. KEBREAB, G. WAGHORN, H. P. S. MAKKAR, A. T. ADESOGAN, W. YANG, C. LEE, P. J. GERBER, B. HERDERSON, und J. M. TRICARIO, (2013): Special topics - Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91:5045-5069.

IPCC, (2013): Fünfter Sachstandsbericht des IPCC. Teilbericht 1 (Wissenschaftliche Grundlagen). Umweltbundesamt. Deutsche IPCC Koordinierungsstelle. Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Bundesministerium für Bildung und Forschung. http://www.bmub.bund.de/fileadmin/Daten_BMU/Download_PDF/Klimaschutz/ipcc_sachstandsbericht_5_teil_1_bf.pdf, Abgerufen am 20.03.2016.

JENTSCH, W., M. SCHWEIGEL, F. WEISSBACH, H. SCHOLZE, W. PITROFF, und M. DERNO, (2007): Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Arch. Anim. Nutr.* 61:10-19.

JOHNSON, K. A., und D. E. JOHNSON, (1995): Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483-2492.

KNAPP, J.R., G.L. LAUR, P.A. VADAS, W.P. WEISS und J.M. TRICARICO, (2014): Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97:3231-3261.

KUHLA B., M. DERNO, und C.C. METGES, (2015): Indirect calorimetry for elucidating dynamics in energy metabolism of farm animals. In; *Indirect calorimetry: Techniques, computations and applications*; Gerrits, W., Labussiere E. (eds.), Wageningen Academic Publishers. Wageningen, Niederlande. 115-133.

LINDENA, T., (2013): Phänotypische Beschreibung der Versuchskühe des MethanA-Vorhabens auf Einzeltierbasis und unter besonderer Berücksichtigung von Faktoren mit Einfluss auf die Methanbildung. Bachelorarbeit, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

MARTIN, C., D. P. MORGAVI, und M. DOREAU, (2010): Methane mitigation in ruminants: From microbe to the farm scale. *Animal* 4:351-365.

MACCARTNEY, C. A., I. D. BULL, und R. J. DEWHURST, (2013a): Chemical markers for rumen methanogens and methanogenesis. *Animal* 7:409-417.

MCCARTNEY, C. A., I. D. BULL, T. YAN, und R. J. DEWHURST, (2013b): Assessment of archaeol as a molecular proxy for methane production in cattle. *J. Dairy Sci.* 96:1211-1217.

MCCARTNEY, C. A., I. D. BULL, S. M. WATERS, und R. J. DEWHURST, (2013c) Technical note: Comparison of biomarker and molecular biological methods for estimating methanogen abundance. *J. Anim. Sci.* 91:5724-5728.

MCCARTNEY, C. A., I. D. BULL, und R. J. DEWHURST, (2014): Using archaeol to investigate the location of methanogens in the ruminant digestive tract. *Livest. Sci.* 164:39-45.

MOATE, P. J., M. H. DEIGHTON, S. R. O. WILLIAMS, J. E. PRYCE, B. J. HAYES, J. L. JACOBS, R. J. ECKARD, C. H. MURRAY, und W. J. WALES, (2015): Reducing the carbon footprint of Australian milk production by mitigation of enteric methane emissions. *Anim. Prod. Sci.* 56:1017-1034.

PICKERING, N.K., M.G.G. CHAGUNDA, G. BANOS, R. MRODE, J.C. MCEWAN und E. WALL, (2015): Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. *J. Anim. Sci.* 93:11-20.

REIST M., D. ERDIN, D. VON EUW, K. TSCHUEMPERLIN, H. LEUENBERGER, Y. CHILLARD, H. M. HAMMON, C. MOREL, C. PHILIPOA, Y. ZBINDEN, N. KUENZI und J. W. BLUM, (2002): Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3314-3327.

SANDBERG, L.-M., KRATTENMACHER, N., TETENS, J., und THALLER, G., (2017): Methoden zur Quantifizierung der Methanemissionen bei Rindern – Stand der Forschung, Potenziale und Grenzen. *Züchtungskunde.* 89:161-187.

SAS Institute Inc. (2013): SAS/STAT User's guide. Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SCHWARM. A., M. SCHWEIGEL-RÖNTGEN, M. KREUZER, S. ORTMANN, F. GILL, B. KUHLA, U. MEYER, M. LOHÖLTER und M. DERNO, (2015): Methane emission, digestive characteristics and faecal archaeol in heifers fed diets based on silage from brown midrib maize as compared to conventional maize. *Arch. Anim. Nutr.* 69:159-176.

UBA, Umweltbundesamt (2015): Methan-Emissionen. <http://www.umweltbundesamt.de/daten/klimawandel/treibhausgas-emissionen-in-deutschland/methan-emissionen>, Abgerufen am 03.06.2015.

VAN GASTELEN, S., E. C. ANTUNES-FERNANDES, K. A. HETTINGA, G. KLOP, S. J. J. ALFERINK, W. H. HHENDRIKS, und J. DIJKSTRA, (2015): Enteric methane production, rumen volatile fatty acid concentrations, and milk fatty acid composition in lactating Holstein-Friesian cows fed grass silage- or corn silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 98:1915-1927.

VAN LINGEN, H.J., L.A. CROMPTON, W.H. HENDRIKS, C.K. REYNOLDS und J. DIJKSTRA, (2016): Meta-analysis of relationships between enteric methane yield and milk fatty acid profile in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:7115-7132.

ZIESLER, J. (2013): Einfluss der Futterzusammensetzung auf die Methanproduktion bei der Milchkuh. Masterarbeit, Universität Rostock.

8. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen

Veröffentlichungen

- AGUINAGA CASAÑAS, M.A., RANGKASENEE, N., KRATTENMACHER, N., THALLER, G., METGES, C.C., KUHLA B. (2015): Methyl-coenzyme M reductase A as an indicator to estimate methane production from dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 4074-4083.
- GÖRS, S., KUHLA, N., KRATTENMACHER, N., THALLER G., METGES, CC. (2016): Technical note: Analytical refinements of the methane indicator archaeol in bovine feces, rumen fluid, and feedstuffs. *Journal of Dairy Science*, 99, 9313-9318.
- KRATTENMACHER, N. (2014): Methanproduktion reduzieren: Hilfsmerkmal für die Milchrinderzucht gesucht. Kuhkot als Informationsquelle? *Bauernblatt*, 33. Ausgabe, 16. August 2014, 45-55.
- KRATTENMACHER N., THALLER G. (2015): Ansätze zur züchterischen Reduktion der Methanemissionen. 7. Rinder-Workshop, Uelzen, DGfZ-Schriftenreihe Heft 66, 64-75.
- SANDBERG, L., KRATTENMACHER, N., GÖRS, S., KUHLA, B., TETENS, J., METGES, C. C., THALLER, G. (2016): Use of archaeol as a proxy for methane emission in dairy cattle. 67th EAAP Tagung Belfast, Book of Abstracts No. 22, 331.
- SANDBERG, L-M., KRATTENMACHER, N., TETENS, J., THALLER, G. (2017): Methoden zur Quantifizierung der Methanemissionen bei Rindern – Möglichkeiten und Grenzen. *Züchtungskunde*, 89, 161-187.
- SANDBERG, L.-M., ULBRICHT, A., FISCHER, M.A., KRATTENMACHER, N., GÖRS, S., KUHLA, B., METGES, C., SCHMITZ, R.A., THALLER, G. (2017): Untersuchungen zum Archaeolgehalt und mikrobiellen Status im Kot von Milchkühen. Jahrestagung der DGfZ und GfT am 20./21. September 2017 in Hohenheim. Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e. V., A19.
- SANDBERG, L.-M., KRATTENMACHER, N., STAMER, E., TETENS, J., GÖRS, S., KUHLA, B., METGES, C.C., THALLER, G. (2016): Untersuchungen zum fäkalen Archaeolgehalt bei Milchrindern in unterschiedlichen Produktionsstadien. Jahrestagung der DGfZ und GfT am 20./21. September 2016 in Hannover. Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e. V., D11.
- SANDBERG, L. M., KUHLA B., GÖRS S., METGES C. C., THALLER G., Krattenmacher N. (2015): Untersuchungen zur Eignung des fäkalen Archaeolgehaltes als Biomarker für die Methanogenese. Jahrestagung der DGfZ und GfT am 16./17. September 2015 in Berlin. Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e. V., B16.

Poster

- SANDBERG, L.-M., ULBRICHT, A., FISCHER, M.A., KRATTENMACHER, N., GÖRS, S., KUHLA, B., METGES, C., SCHMITZ, R.A., THALLER, G. (2018): Fecal Archaeol Concentration and Rumen Microbial Community Structure in Lactating Dairy Cows. 11th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Auckland, Neuseeland.
- SANDBERG, L., KRATTENMACHER, N., GÖRS, S., KUHLA, B., TETENS, J., METGES, C., THALLER, G. (2016): Use of archaeol as a proxy for methane emission in dairy cattle. 67th EAAP Tagung, 28. September - 02. Oktober 2016, Belfast.
- SANDBERG, L. M., KRATTENMACHER N., THALLER G. (2015): Zucht auf verringerte Methanemissionen beim Milchrind mit Hilfe des Biomarkers Archaeol. Hoffest des Versuchsbetriebes Karkendamm, 09. Mai 2015, Bimöhlen.
- SANDBERG, L., KRATTENMACHER, N., THALLER, G. (2016): Archaeol - a potential biomarker for methane mitigation in dairy cattle? EUROTIER. 15. - 18. November 2016, Hannover.

Vorträge

- METGES, C.C.; DERNO, M.; ZIESSLER, J.; KRATTENMACHER, N.; THALLER, G.; KRATTENMACHER N., THALLER G. (2015): Ansätze zur züchterischen Reduktion der Methanemissionen. 7. Rinder-Workshop.
- KUHLA, B. (2014): A larger proportion of grass feed components in the ration was associated with higher methane production rates of dairy cows. 2014 JAM, Kansas City, Missouri, USA, 20.-24.7.2014.
- SANDBERG, L.-M., ULBRICHT, A., FISCHER, M.A., KRATTENMACHER, N., GÖRS, S., KUHLA, B., METGES, C.C., SCHMITZ, R.A., THALLER, G. (2017): Untersuchungen zum Archaeolgehalt und mikrobiellen Status im Kot von Milchkühen. Vortragstagung der DGfZ und GfT am 20./21. September 2017 in Hohenheim.
- SANDBERG, L.-M., KRATTENMACHER, N., STAMER, E., TETENS, J., GÖRS, S., KUHLA, B., METGES, C.C., THALLER, G. (2016): Untersuchungen zum fäkalen Archaeolgehalt bei Milchrindern in unterschiedlichen Produktionsstadien. Vortragstagung der DGfZ und GfT am 20./21. September 2016 in Hannover.
- SANDBERG, L.-M., KUHLA, B., GÖRS, S., METGES, C. C., THALLER, G., KRATTENMACHER, N. (2015): Untersuchungen zur Eignung des fäkalen Archaeolgehaltes als Biomarker für die Methanogenese. Vortragstagung der DGfZ und GfT am 16./17. September 2015 in Berlin.

Filmbeiträge und Printmedien

SANDBERG, L.-M. (2017): Projekt MethanA. Filmvorführung. Hoffest des Versuchsbetriebes Karkendamm, 18. Juni 2017, Bimöhlen.

BACKHEUER, K. (2015): Jeder Rülpsen belastet das Klima, CAU Kiel 350 Jahre, Serie: Wer forscht denn da? KN, 9.11.2015

NDR DAS! (2015): TV Beitrag „Warum Kühe rülpsen.“ Ausstrahlung am 7.12.2015 19 Uhr.