



Berichte über Landwirtschaft

Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft

BAND 99 | Ausgabe 1

Agrarwissenschaft
Forschung

Praxis

Das Rind: ein klassischer Holobiont

Teil 1: Variierende Hologenome und Methanbildung

von Wilfried Brade

1 Einleitung

Der Pansen (lat.: Rumen) ist eine prägastrische Fermentationskammer mit einem sehr komplexen mikrobiellen Ökosystem. Methan (CH₄) wird hier von *methanogenen Archaeen* (= Methan-bildende einzellige Lebewesen) produziert. Ihre CH₄-Synthese kann als Endprodukt ihrer speziellen Atmung angesehen werden. Gleichzeitig wird der im Rahmen der anaeroben Gärung gebildete Wasserstoff (H₂), der für das Tier toxisch ist, verstoffwechselt und damit für den Wirt (= Wiederkäuer) vor Ort ‚entgiftet‘.

Mehrere Studien belegen zwischenzeitlich, dass die während des Verdauungsprozesses (= *enterische Fermentation*) stattfindende CH₄-Erzeugung im Pansen der Wiederkäuer teilweise unter genetischer Kontrolle steht. Da Wiederkäuer selbst keine Gene für die CH₄-Bildung besitzen, ist hier korrekterweise der Wiederkäuer als Holobiont zu bewerten.

Der Beitrag der ruminalen Mikrobiota zur enterischen CH₄-Bildung (bzw. Futterverwertung) ist bei Wiederkäuern gut belegt (Ross et al., 2013; Tapio et al., 2017, Difford et al., 2018, Delgado et al., 2019). Die enterische CH₄-Produktion ist jedoch ein komplexes Merkmal, das nicht nur vom Pansenmikrobiom sondern auch von der Wirtsgenetik (Cabezas-Garcia, 2017, Difford et al., 2018, Ramayo-Caldas et al., 2020) und weiteren Faktoren (speziell: Fütterung) abhängt (Flachowsky und Brade, 2007, Martin et al., 2009, Knapp et al., 2014, Henderson et al., 2015, Hristov et al., 2015, Huws et al., 2018).

2 Definitionen

Unter einem **Holobiont** versteht man ein biologisches System, das aus einem eukaryoten Wirtsorganismus und einer Vielzahl mit diesem eng zusammenlebenden weiteren eu- und/oder prokaryoten Arten besteht.

Der Ausdruck *Holobiont* beinhaltet mehrere griechische Wörter: *Hólos* = alles (gesamt); *bíos* = Leben; *óntos* = Wesen. In diesem Sinn sollte man unter einem Holobiont ein „ganzheitliches“ Lebewesen

verstehen. Der Begriff wurde 1991 erstmalig von der Biologin *Lynn Margulis* (1938 - 2011) genutzt. Holobionten können auch als mehrteilige ökologische Einheiten bewertet werden. Auch der Mensch ist ein Holobiont!

Das Genom eines Holobionten besteht aus dem Genom des Wirts und seiner Symbionten; also aus mehreren Genomen. Es wird als **Hologenom** bezeichnet.

Eine Symbiose stellt in der Regel die Basis für einen Holobionten dar. Die Partner sind voneinander abhängig, beeinflussen einander und entwickeln sich gemeinsam, sodass sie zusammen eine ‚neue‘ Art von Organismus formen. Sein Erbgut, das Hologenom, umfasst dann die Gene aller daran beteiligten Arten.

Ein besonders anschauliches Beispiel für einen Holobionten ist die Flechte *Cladonia cristatella*. Flechten sind Lebensformen, die gemeinsam von Algen und Pilzen gebildet werden. Beide sind auch einzeln lebensfähig, bilden dann aber nur unstrukturierte Beläge.

Der Begriff **Mikrobiom** wurde von dem US-Molekularbiologen und Nobelpreisträger Joshua Lederberg vor ca. 20 Jahren geprägt. Primär gehören dazu die Mikroorganismen des Verdauungstraktes, aber auch der Haut, des Urogenitaltrakts, des Mundes, des Rachens oder der Nase (Lederberg, 2000).

Mittlerweile werden auch separate Mikrobiome betrachtet, die jeweils nur einen speziellen Teil eines Wirts umfassen (z.B. ruminales Mikrobiom des Rindes).

Erst die sehr zahlreichen Symbionten im Pansen geben dem Wiederkäuer die Fähigkeit, Futter zu nutzen, das nicht für den menschlichen Verzehr geeignet ist.

Das Pansenmikrobiom - die Summe aller Mikroorganismen, die den Pansen besiedeln - ist von zahlreichen Einflussfaktoren gleichzeitig abhängig. Fütterung und Rationsgestaltung (sowohl in der Aufzucht als auch während der Laktation) kommt dabei eine besondere Bedeutung zu (Abb. 1).

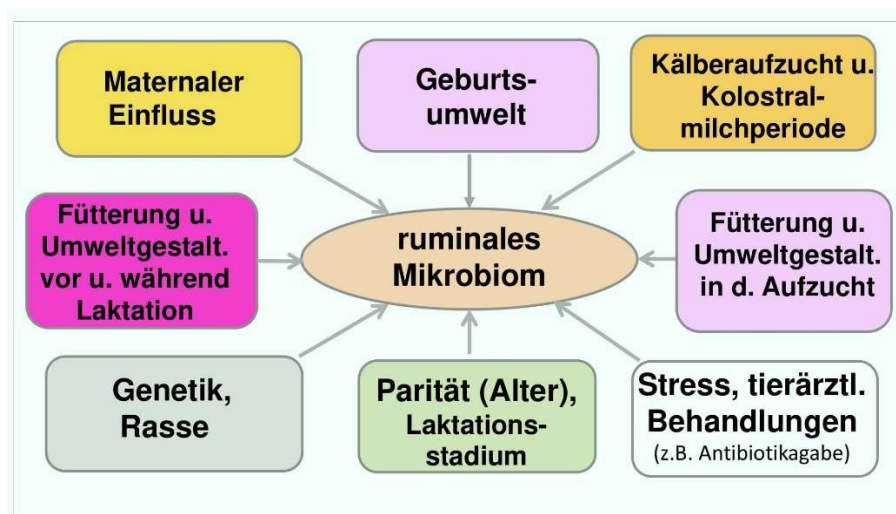


Abbildung. 1: Einige ausgewählte Einflussfaktoren auf das ruminale Mikrobiom – eigene Grafik

Das ruminale Mikrobiom ist der Schlüssel beispielsweise zum Verständnis der Methanbildung bzw. der Besonderheiten des N-Stoffwechsels der Wiederkäuer. Darüber hinaus ist es auch für das Auftreten spezifischer Erkrankungen seines Wirtes mit verantwortlich oder bestimmt mit darüber, ob Futterzusätze bzw. oral verabreichte Medikamente wirken.

Variierende Effekte des Mikrobioms auf spezifische Eigenschaften des Wirts sind auf zwei Ebenen zu charakterisieren (siehe auch nachfolgenden Kasten):

1. eine mögliche Variabilität bezüglich der Struktur und Dichte;
2. eine mögliche Variabilität im Vorhandensein stoffwechselaktiver Enzyme bzw. präferierter Stoffwechselwege, determiniert in den mikrobiellen Genen.

Charakterisierung der Holobionten bzw. ihrer Hologenome (nach Bordenstein et al., 2015, modifiziert)

- *Holobionten sind Einheiten der biologischen Organisation.*
(= komplexe vielzellige Eukaryoten sind keine autonomen Organismen. Sie sind vielmehr biologische Einheiten, die zahlreichen mikrobielle Symbionten und ihre Genome beinhalten).
- *Holobionten sind keine Superorganismen.*
- *Das Hologenom ist ein umfassendes genetisches System.*
(= nützliche, schädliche bzw. neutrale Mutationen in einer dieser genomischen Untereinheiten bedingen hologenomische Variation).
- *Das Wirtsgenom wird hauptsächlich innerhalb eines Mendelschen Rahmens vererbt. Das Mikrobiom stammt ursprünglich aus der Umwelt und kann - zumindest zum Teil - über Generationen hinweg weitergegeben werden.*
(= Das Mikrobiom formt viele Merkmale der Wirte, aber wir verstehen immer noch nicht genau, wie es die Wirtsentwicklung beeinflusst. Um die Evolution des Wirts zu beeinflussen, muss das Mikrobiom über Generationen weitergegeben werden und phänotypische Auswirkungen auf den Wirt haben).
- *Die hologenomische Variation integriert alle möglichen Mutationsmechanismen.*
(= Jedes Hologenom stellt eine ‚Mehrfachmutante‘ dar. Punktmutation, horizontaler Gentransfer, Rekombination, Genverlust und -duplikation sowie mikrobieller Verlust sind mögliche Ursachen für Variationen).
- *Das Hologenom ist geprägt durch Selektion.*
(= Natürliche Selektion kann ‚schädliche‘ Kernmutationen oder Mikroben entfernen).
- *Holobionten und ihre Hologenome ändern die Regeln der Evolutionsbiologie nicht.*

3 Analyse komplexer mikrobiologischer Ökosysteme

Kultivierbare Mikroorganismen stellen nur einen winzigen Bruchteil der mikrobiellen Gemeinschaft im Pansen dar (Creevey et al., 2014).

Um Bakterien mittels einer von der Kultivierung unabhängigen Methode zu identifizieren, werden zunehmend *phylogenetische Markermoleküle* genutzt. Ein geeignetes Markermolekül wurde in der ribosomalen RNA gefunden (=16S rRNA - vgl. Woese, 1987).

Mittels der fast zeitgleich entwickelten PCR-Technik (polymerase chain reaction) wurde darüber hinaus eine Möglichkeit geschaffen, ausgesuchte Genfragmente aus einem RNA-Gemisch *in vitro* zu vervielfältigen und einer genauen Untersuchung zuzuführen.

Weitere molekularbiologische Entwicklungen erleichtern die Identifikation von Prokaryoten zwischenzeitlich zusätzlich (Creevey, 2014).

Derartige, von einer Kultivierung unabhängige Analysen, bakterielle rRNA-Gene bieten nun einen umfassenden Einblick in die Zusammensetzung gemischter mikrobieller Gemeinschaften in den verschiedensten Habitaten (Böden, Biogasanlagen, Tiere etc.)

Die Bestimmung der *speziesspezifischen* rRNA hat sich als verlässlicher phylogenetischer Marker erwiesen. Zwischenzeitlich wird die molekulargenetische Analyse *komplexer* rRNA-Sequenzen routinemäßig weltweit angewandt.

Öffentlich zugängliche Datenbanken mit umfangreichen Datensätzen dienen der schnellen Auswertung und phylogenetischen Zuordnung von rRNA-Sequenzen.

Die rRNA-Technik bietet summa summarum die Möglichkeit der Identifikation und Klassifikation von Mikroorganismen, welche sonst nur schwer oder gar nicht kultivierbar sind.

Jedoch hat auch diese Methode einige Einschränkungen (z.B.: wenn es in der Aufbereitung nicht gelingt, Zellen adäquat zu lysieren). Leider vermögen die rRNA-Methoden nicht zwischen lebenden und/oder toten(verdauten) Mikroben zu unterscheiden.

Die Mikrobiologen haben deshalb - um die genomische Einzigartigkeit eines molekulargenetisch identifizierten, aber nicht genau taxonomisch zuordenbaren Organismus zu beschreiben - den Begriff "*operative taxonomische Einheit (OTU)*" eingeführt.

Eine OTU wird in der Regel als ein Cluster von RNA-Sequenzen mit 97%-iger Ähnlichkeit definiert, mit der Erwartung, dass dieser ungefähr der Art entspricht.

Dies ist unter der Bedingung sinnvoll, dass bei einer nachgelagerten Analyse berücksichtigt wird, dass die Korrespondenz der OTUs mit differenzierten Arten auch fehlschlagen kann, weil

- einige Arten RNA-Sequenzen (Gene) haben, die zu mehr als 97% ähnlich sind, was OTUs ergibt, die mehrere Arten enthalten,
- einige Arten auch weniger als 97% ähnliche RNA-Sequenzen (Gene) aufweisen können, was dazu führt, dass die Art auf zwei oder mehr OTU aufgeteilt wird,
- Vorhandensein von Artefakten.

4 Quantifizierung des Mikrobiom-bedingten Effektes

Die Zusammensetzung und Vielfalt der Mikrobiota wird bei praktisch allen Tierarten mit einer zunehmenden Zahl von Merkmalen (Phänotypen) in Verbindung gebracht; von Produktionsmerkmalen wie Futtereffizienz bis zu komplizierteren Merkmalen wie Gesundheit oder Methanproduktion.

Die Mikrobiota des Gastrointestinaltrakts (GIT) wurde bisher am häufigsten untersucht, aber auch neuere Ergebnisse für das Fortpflanzungssystem sind zu nennen (Karstrup et al., 2017, Moore et al., 2017).

Da das Mikrobiom sowohl horizontal innerhalb der Populationen als auch vertikal zwischen den Generationen übertragen werden kann, reicht die traditionelle Definition des Phänotyps (P) - basierend lediglich auf einen genetischen (G) und umweltbedingten Effekte (E) - nicht aus (Estellé, 2019).

Daher erscheint es relevant, *holobionte Entitäten* in der Weise zu charakterisieren, dass zur Beschreibung eines Phänotyps ein spezieller Mikrobiom (M)-Effekt hinzugefügt wird:

$$P = G + M + E.$$

Die genaue Abschätzung dieser Effekte setzt voraus, dass Daten über eine beträchtliche Anzahl von Individuen hinsichtlich ihrer Genome, Phänotypen und Mikrobiota-Zusammensetzung vorliegen.

Damit lassen sich folgende Kenngrößen merkmalspezifisch definieren:

1. die *Heritabilität*: $h^2 = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_p}$ als Anteil der additiv-genetischen Varianz des Wirtsgenoms an der Gesamtvarianz des interessierenden Merkmals (Phänotyp)
2. die *Mikrobiabilität* (engl.: *microbiability*): $m^2 = \frac{\sigma^2_m}{\sigma^2_p}$ als Anteil der Varianz des Mikrobioms an der Gesamtvarianz des interessierenden Merkmals (Phänotyp).

Um die verschiedenen Wirkungen korrekt abzuschätzen, sollten zusätzlich mögliche Wechselwirkungen zwischen G, M und E anerkannt werden:

$$P = G + M + E + G \times E + M \times E + G \times M + G \times E \times M.$$

Wir wissen, dass sich die Leistung eines Genotyps in verschiedenen Umwelten erheblich unterscheiden kann. Das Vorhandensein von Genotyp-Umwelt-Interaktionen (GxE) ist in der Literatur gut beschrieben.

Bekannt ist auch, dass die Mikrobiom-Zusammensetzung durch die Ernährung (Umwelt) oder das Tierproduktionssystem (z. B. Freiland- oder Indoor-Landwirtschaft) beeinflusst wird; ausgedrückt als MxE-Wechselwirkung. In ähnlicher Weise werden zunehmend auch GxM-Befunde zwischen Wirtsgenomen und (Darm-)Mikrobiota beschrieben.

Das Studium der dreifachen GxExM-Wechselwirkung dürfte ein weiterer Meilenstein in zukünftigen Bewertungen komplexer Phänotypen (Gesundheitsmerkmale, Methanbildung etc.) sein; deren sichere Erfassung wohl aber erst künftigen Forschergenerationen vorbehalten bleibt.

Zusammenfassend ist festzuhalten: die stetig wachsende Zahl an Veröffentlichungen belegt, dass die Einbeziehung von Mikrobiomeffekten in Modellgleichungen zur Erfassung komplexer Phänotypen eine erhöhte Präzision und damit korrektere Bewertung von Individuen ermöglicht (Estellé, 2019).

5 Methanbildung und zugehörige Einflüsse

Methan ist ein natürliches Nebenprodukt der gastroenterischen Fermentation von Biomasse mit hohem Faseranteil durch mikrobielle enzymatische Aktivität im Pansen.

Die im Pansen vorhandenen Bakterien, Protozoen und Pilze produzieren Kohlendioxid (CO₂) und Wasserstoff (H₂), die in Methan (CH₄) umgewandelt werden; hauptsächlich durch die als *Methanogene* bekannte *Archaeen*.

Die CH₄-Bildung (einschl. Abgabe in die Umwelt) ist ein entscheidender Weg zur Aufrechterhaltung des H₂-Gleichgewichts im Pansen, da die optimalen Bedingungen für die anaerobe Fermentation durch die mikrobielle Pansengemeinschaft auf einen engen Bereich des H₂-Partialdrucks begrenzt sind. *Hydrogenase* exprimierende Bakterien konvertieren metabolischen Wasserstoff aus anaerober Fermentation zu H₂, der dann über eine weitere Methanogenese in CH₄ umgewandelt wird.

Die tägliche CH₄-Bildung unterliegt einer Vielzahl gleichzeitig wirkender Einflussgrößen (Abb. 2).

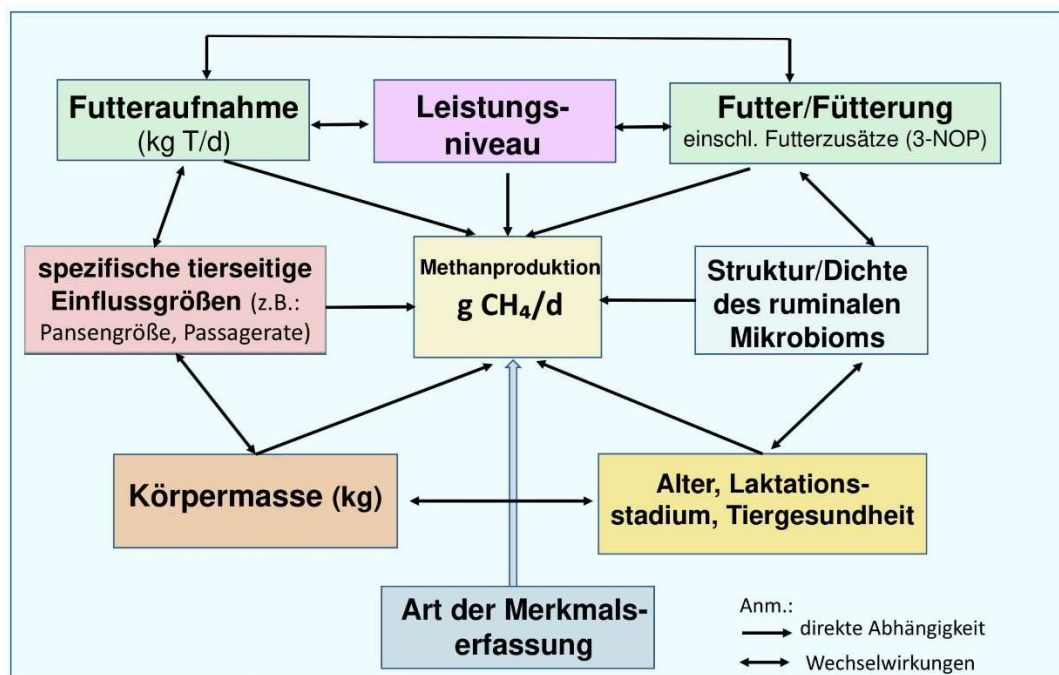


Abbildung 2: Ausgewählte Einflussfaktoren auf die tägliche CH₄-Bildung von Milchkühen - eigene Grafik

Futtermittelaufnahme, Futtermittelzusammensetzung, Körpermasse (KM), Aktivität (= Bewegung), zirkadianer Rhythmus, Laktationsstadium und weitere Faktoren sind zu nennen, die die tägliche CH₄-Produktion beeinflussen (Abb. 2). Die Zusammensetzung des Pansenmikrobioms wird in besonderer Weise von der Diät beeinflusst (Henderson et al., 2015).

Da ein zunehmendes Leistungsniveau eine zunehmende Energie- und Nährstoffaufnahme erfordert, ist gleichzeitig eine Abhängigkeit der täglichen CH_4 -Emission von der Milchleistung (bei Milchkühen) anzuerkennen.

Sichere tierindividuelle Bewertungen mit dem Ziel, die CH_4 -Erzeugung von Wiederkäuern auf eine Einheit essbares Produkt zu reduzieren, sind deshalb schwierig (z.B. g CH_4 pro kg energiekorrigierte Milch (ECM)), da der Anteil des Erhaltungsbedarfs gleichzeitig von der Leistungshöhe und der Körpermasse der Milchkühe abhängig ist (Abb. 3).

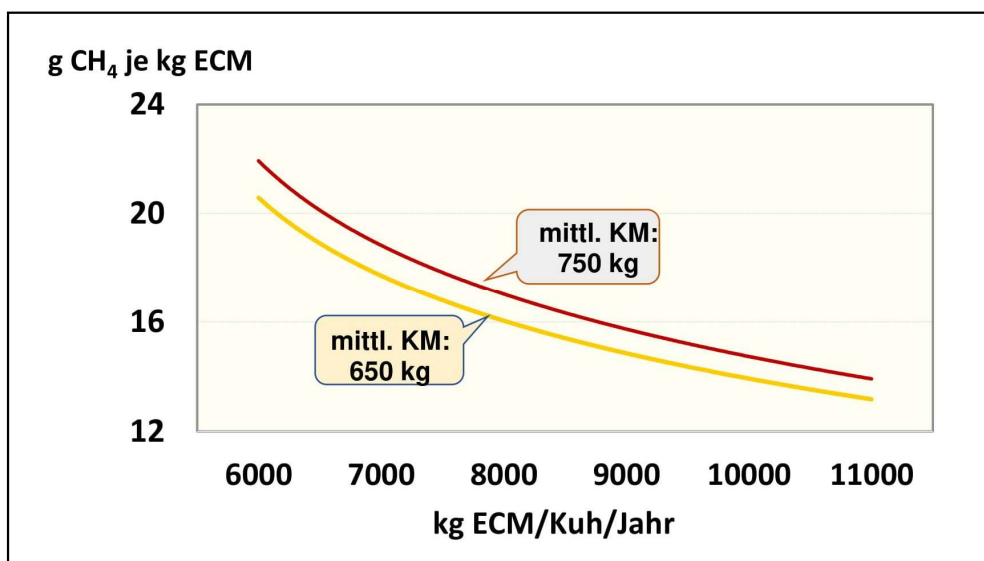


Abbildung 3: CH_4 -Intensität (in g CH_4 je kg ECM) durch enterische Fermentationsprozesse in Abhängigkeit vom Leistungsniveau und der Körpermasse der Milchkühe (eigene Berechnungen; Anm: KM = Körpermasse der Milchkühe)

Die Konsequenz ist, dass solche Faktoren wie Leistungshöhe, Milchezusammensetzung und Körpermasse den zugehörigen CH_4 -Phänotyp modifizieren.

Der sogenannte CH_4 -Ertrag (g CH_4 /kg T; mit T= (Futter)-Trockenmasseaufnahme oder noch besser: g CH_4 /MJ der verdaulichen Energieaufnahme) ist aktuell wohl der geeignetste Kennwert zur Charakterisierung des Methan-Phänotypes aus genetisch-züchterischer Sicht.

6 Einfluss der Diät

Die tägliche Futtermenge (kg T/d) der Kühe und die verabreichte Diät (Futterzusammensetzung) sind als Hauptdeterminante für die tägliche CH_4 -Produktion bekannt. So begünstigt ein höherer Stärkegehalt in der Ration die Propionatsynthese, die vergleichsweise mehr fermentativen Wasserstoff verbraucht als die ruminale Azetat- und Butyratbildung (vgl. Abb. 4).

Unter den diätetischen Interventionen ist die Veränderung des Raufutter- : Konzentrat-Verhältnisses wohl die am meisten untersuchte (Knapp et al., 2014).

Konzentrat-reich ernährte Rinder neigen dazu, eine geringere Bakterienvielfalt und geringere Konzentration an ruminalen Eukaryoten aufzuweisen (Belanche et al., 2012). Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass eine Diät mit hohem Getreideanteil die Zusammensetzung der methanogenen Gemeinschaft des Pansens beeinflusst; mit einer deutlich erkennbaren Auswirkung beispielsweise auf die Methanomicrobiales-Ordnung (Friedman et al., 2017).

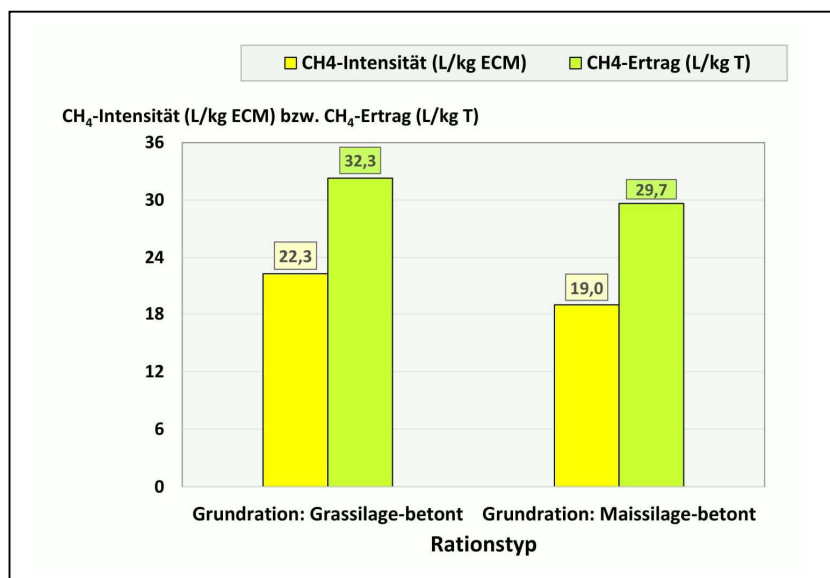


Abbildung 4: Methanbildung in Abhängigkeit von der Basisration (erstellt nach Versuchsergebnissen von Engelke et al., 2019 - eigene Grafik)

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl bioaktiver Verbindungen, einschließlich Saponinen, ätherischen Ölen, Tanninen oder Flavonoiden, auf ihre Fähigkeit zur Modulation der mikrobiellen Fermentation im Pansen untersucht (Huws et al., 2018).

Ätherische Öle verlangsamen den schnellen Abbau von Stärke und Proteine. Ihre Anwendung bleibt jedoch aufgrund ihrer nachteiligen Auswirkungen auf den ruminalen Fermentationsprozess begrenzt (Macheboeuf et al., 2008).

Eine der vielversprechendsten Verbindungen zur Verringerung der ruminalen Methanogenese ist 3-NOP. 3-Nitrooxypropanol, abgekürzt 3-NOP, ist eine organische Verbindung. Es ist der Mononitratester von 1,3-Propandiol. Die Verbindung ist ein Inhibitor des Enzyms Methyl-Coenzym-M-Reduktase (MCR). Wird es an Wiederkäuer (in nur sehr kleiner Dosis: ca. 70 bis 130 mg/kg Futtertrockenmasse (T)) gefüttert, nimmt die Methanproduktion (bis zu ca. 30 %) ab (Abb. 5).

Das niederländische Unternehmen DSM besitzt ein Patent auf 3-NOP und hat bereits bei den europäischen Regulierungsbehörden die Zulassung für den Verkauf des Präparats als Futterzusatz beantragt.

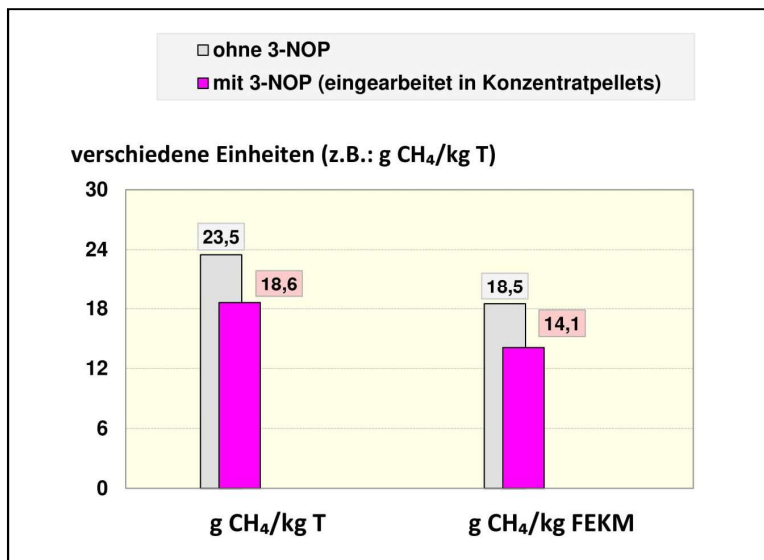


Abbildung 5: Beobachtete Methanemissionen (ausgedrückt in verschiedenen Einheiten) mit bzw. ohne Verabreichung von 3-NOP (eigene Grafik: Basis: Exaktversuche von Van Wesemael et al., 2018);

Neuere Studien an Wiederkäuern haben die Beziehung der Pansen-Mikrobiota-Zusammensetzung zur Futtereffizienz und/oder CH₄-Emission in Beziehung gesetzt (Delgado et al., 2019).

Unterschiedliche Methanerträge können - unter äquivalenten Fütterungsbedingungen - auch auf Unterschiede in der Verdauungsphysiologie der Tiere, in der mikrobiellen Gemeinschaft im Pansen oder auf eine Kombination von beiden zurückzuführen sein.

So belegen neuere Studien, dass die Größe des Pansens und die Retentionszeit der Digesta mit der CH₄-Emission zusammenhängen (Goopy et al., 2014). Ein schnellerer Durchfluß der verabreichten Futtermittel durch den Pansen sollte generell zu einer Verkürzung der für die Fermentation des Substrats verfügbaren Zeit führen.

7 Struktur der Pansengemeinschaft und Methanertrag bei Milchkühen

Das Vorhandensein mikrobieller Cluster wurde erstmals in bakteriellen Darmgemeinschaftstypen sowohl beim Menschen (Arumugam et al., 2013) als auch Mäusen (Hildebrand et al., 2013) beschrieben. Sie werden als „Enterotypen“ bezeichnet und zwischenzeitlich mit weiteren spezifischen Wirtsphänotypen in Verbindung gebracht.

Dieses Konzept wurde später auf ruminale Bakteriengemeinschaften (bei Schafen) übertragen (Kittlmann et al. 2014). Sie werden zwischenzeitlich auch als „Ruminotypen“ charakterisiert.

In einer Studie von Ramayo-Caldas et al. (2020) wurde kürzlich erstmalig auch das Pansenmikrobiom von Milchkühen bezüglich seiner Assoziation mit dem CH₄-Ertrag laktierender Holsteinrindern analysiert. Die beschreibende Versuchsstatistik ist in Tabelle 1 zusammengestellt.

Die relative Variabilität des Methanertrages kann mit 13 % charakterisiert werden (Tab. 1).

Tabelle 1:
Beobachtete Merkmalswerte*

Merkmal	Mittelwert	Variationskoeffizient (in %)
Lebendmasse (kg)	634	8
T-Aufnahme (kg/d)	21,2	10
Milchleistung (kg/d)	31,1	15
Methanertrag (g CH ₄ /kg T)	24,1	13

*Quelle: Ramayo-Caldas et al. (2020)

Der Zusammenhang zwischen Ruminotyp und CH₄-Ertrag wurde systematisch erfasst.

Dazu wurden die 16S-rRNA-Gensequenzen in der Pansenflüssigkeitsfraktion analysiert. Nach der Qualitätskontrolle wurden 1.198 bakterielle OTUs beschrieben. Drei Cluster (R1, R2 und R3) wurden identifiziert (Ramayo-Caldas et al., 2020).

Die mit dem CH₄-Ertrag verbundenen OTUs waren überwiegend wasserstoffproduzierende Bakterien. Der R2-Cluster ist mit einem höheren CH₄-Ertrag assoziiert. Die taxonomische Zusammensetzung von R2 zeigte eine geringere Häufigkeit von Succinivibrionaceae und Methanosphaera und eine höhere Häufigkeit von Ruminococcaceae, Christensenellaceae und Lachnospiraceae.

Darüber hinaus ergab die funktionelle metagenomische Analyse, dass die in Cluster R2 klassifizierten Proben durch Gene überrepräsentiert waren, die die Methanogenese kodieren.

An dieser Stelle bleibt zu erwähnen, dass kürzlich Succinivibrionaceae auch als Kern erblicher Pansenbakterien identifiziert wurde (Wallace et al., 2019). Succinivibrionaceae produzieren Succinat als Hauptfermentationsprodukt (O'Herrin und Kenealy, 2014), das von anderen Mitgliedern des Mikrobioms oft in Propionat umgewandelt wird.

Zwecks Bestimmung der Heritabilität und der Mikrobiabilität des CH₄-Ertrages wurde ein gemischtes Modell implementiert (Ramayo-Caldas et al., 2020).

Das Wirtsgenom erklärt ~15% der Varianz des CH₄-Ertrages, während die mikrobielle Gemeinschaft ~18% determiniert (Tab. 2). Die berechneten Populationskenngrößen (h^2 , m^2) stimmen gut mit früheren Resultaten für die tägliche Methanbildung (g CH₄/d) in einer dänischen Milchrind-Studie überein (Difford et al., 2018).

Tabelle 2: Heritabilität (h^2) und Mikrobiabilität (m^2) für den Methanertrag laktierender Holsteinkühe*

Merkmal	Basis: 1198 OTUs	
	h^2 ($\pm s$)	m^2 ($\pm s$)
CH ₄ -Ertrag	0,148 ($\pm 0,10$)	0,181 ($\pm 0,11$)

*Quelle: Ramayo-Caldas et al. (2020)

Insgesamt bestätigen auch diese neueren Ergebnisse vorliegende Zusammenhänge zwischen der Struktur ruminaler Bakteriengemeinschaft und der CH₄-Emission von Wiederkäuern.

8 Diskussion

Wiederkäuer haben eine enorme Bedeutung, da sie für den Menschen unverdauliche pflanzliche Biomasse in verdauliche Lebensmittel umwandeln.

Die anaerobe Umgebung im Pansen und die komplexen Stoffwechselfade des Pansenmikrobioms ermöglichen die Fermentation von Pflanzenmaterial in metabolische Endprodukte wie kurzkettige Fettsäuren (VFAs) und Gase (CO₂, CH₄).

Höhere Milcherträge werden oft durch Verabreichung von mehr verdaulichen Kohlenhydraten mit dem Futter sichergestellt. Diäten mit hohem Cellulose-, Hemicellulose- und Lignin-Anteil begünstigen die Produktion von Acetat und Butyrat, während stärkebasierte Diäten die Propionatproduktion fördern. Anzumerken ist deshalb auch, dass die CH₄-Bildung nur für die verabreichte Diät (= Ration) vorhergesagt werden kann, nicht für einzelne Futterbestandteile.

Im Hinblick auf eine generelle Minderung der CH₄-Emissionen im Rahmen einer bereits sehr intensiven Nahrungsmittelerzeugung mit Wiederkäuern sind kurzfristige Effekte wohl nur (noch) durch fütterungsbedingte Maßnahmen einschließlich Nutzung spezifischer Fütterungszusätze (z.B. 3-NOP), weitere Manipulation des ruminalen Mikrobioms sowie indirekte tierbezogene Einflussnahmen (z.B. Reduzierung der Tierverluste, Verbesserung der Nutzungsdauer der Muttertiere etc.) zu erwarten (Knapp et al., 2014, Hristov et al., 2015, Cabezas-Garcia, 2017, Goopy, 2019, Ramayo-Caldas et al., 2020).

Die Etablierung einer direkten genetisch-züchterischen Selektion der Wiederkäuer auf den CH₄-Output pro kg T, wie sie häufig in populärwissenschaftlichen Beiträgen gefordert wird, ist schwierig (Abb. 6).

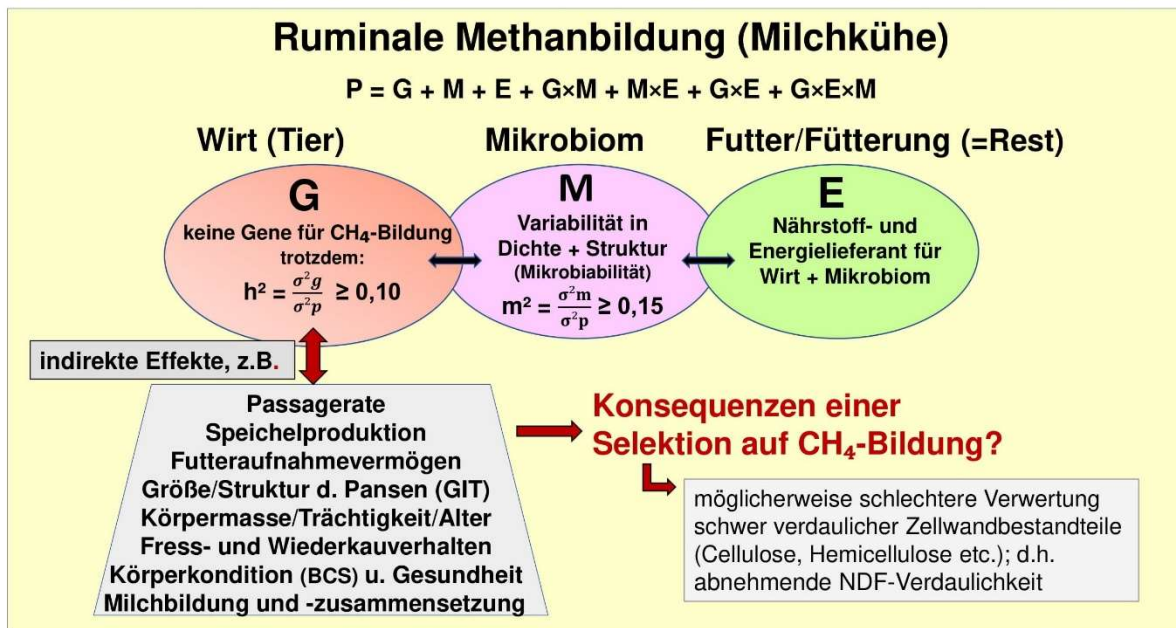


Abbildung 6: Möglichkeiten und Grenzen einer Selektion der Wiederkäuer (Milchkühe) auf die CH₄-Bildung (eigene Grafik)

Eine intensiv-einseitige Auswahl niedriger CH₄-Emittenten in Zuchtprogrammen mit Rindern oder Schafen kann - nach dem aktuell vorliegenden Kenntnisstand - zu einer verminderten Effizienz der Zellwandverwertung bei Wiederkäuern führen.

In einem folgenden Beitrag (Teil 2), wird der Einfluss des Pansenmikrobioms auf die Milchsäurezusammensetzung aufgezeigt.

Zusammenfassung

Das Rind: ein klassischer Holobiont

Teil 1: Variierende Hologenome und Methanbildung

Das Rind ist ein typischer Holobiont. Die Bewertung komplexer Phänotypen erfordert deshalb nicht nur die Bewertung der Heritabilität (h^2) sondern auch der Mikrobiabilität (m^2).

Wir stehen allerdings erst am Anfang, die zugrundeliegenden Beziehungen zwischen Wirtsgenom, Mikrobiom und speziellen Umweltfaktoren merkmalspezifisch zu erfassen.

Am Beispiel der Methanbildung wird gezeigt, dass - obwohl Wiederkäuer keine Gene für die CH₄-Bildung in ihrem Genom besitzen - eine zugehörige genetische Komponente seitens der Wirtstiere existiert.

Das ruminale Mikrobiom determiniert etwa 15% bis 20% der Varianz des CH₄-Ertrages.

Im Hinblick auf eine weitere Minderung der CH₄-Emission im Rahmen sehr intensiver Milchproduktionssysteme mit Holsteinrindern (mittlere Laktationsleistungen ≥ 11.000 kg Milch(EKM)/Kuh/Laktation) sind zugehörige CH₄-Minderungspotenziale vorrangig:

- durch diätetische Maßnahmen einschließlich Nutzung spezifischer Fütterungszusätze (z.B. 3-NOP),
- in einer (zukünftig) weiteren Manipulation des Mikrobioms sowie
- in indirekten tierbezogenen Einflussnahmen (z.B. Reduzierung der Tierverluste, Verbesserung der Nutzungsdauer der Muttertiere etc.) zu suchen.

In weniger intensiven Milchproduktionssystemen bietet sich eine gezielte weitere Leistungssteigerung zusätzlich an.

Summary

Cattle: a classic holobiont

Part 1: varying hologenomes and methane formation

Cattle are typical holobionts. The evaluation of complex phenotypes therefore requires not only the evaluation of heritability (h^2), but also of microbiability (m^2). However, we are only just beginning to understand the underlying relationships between host genome, microbiome and special environmental factors. The example of methane formation shows that – although ruminants have no genes for CH₄-formation in their genome –, an associated genetic component exists on the part of the host animals. The ruminal microbiome determines about 15 to 20 % of the variance in CH₄ yield.

With regard to a further reduction in CH₄ emissions in the context of very intensive milk production systems with Holstein cattle (mean lactation capacities $\geq 11,000$ kg milk (EKM)/cow/lactation), associated CH₄ reduction potentials are primarily to be achieved through dietary measures, including the use of specific feeding additives (e.g. 3-NOP), further manipulation of the microbiome (in the future) as well as indirect animal-related measures (e.g. reduction of animal losses, improvement of cows' duration of use etc.). In less intensive milk production systems, a targeted further increase in performance is particularly useful.

Literatur:

1. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al. (2013): Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473(7346):174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
2. Belanche A, Doreau M, Edwards JE et al. (2012): Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. *J. Nutr.* 142, 1684–1692. <https://doi.org/10.3945/jn.112.159574>
3. Bordenstein SR, Theis KR (2015): Host biology in light of the microbiome: Ten principles of holobionts and hologenomes. *PLoS Biol* 13(8): e1002226. doi:10.1371/journal.pbio.1002226.
4. Brade W (2020): Richtige Definition des Methan-Phänotyps in der genetisch-züchterischen Bewertung von Wiederkäuern. *Der Prakt. Tierarzt*, 101, 380-389.

5. Cabezas-Garcia EH (2017): Methane Production in Dairy Cows. Individual Cow Variability in Methane Production, Doctoral Thesis, Swedish Univ. Agricult. Sci., Umeå 2017.
6. Creevey CJ, Kelly WJ, Henderson G, Leahy SC (2014): Determining the culturability of the rumen bacterial microbiome. *Microbial Biotechnology* 7, 467-479, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12141>
7. Delgado B, Bach A, Guasch I et al. (2019). Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle. *Scientific Reports*, 9(1), 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36673-w>
8. Difford G, Plichta DR, Løvendahl P, et al. (2018): Host genetics and the rumen microbiome jointly associate with methane emissions in dairy cows. *PLoS Genet* 14(10): e1007580. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007580>.
9. Engelke St, Daş G, Derno M et al. (2019): Methane prediction based on individual or groups of milk fatty acids for dairy cows fed rations with or without linseed. *J. Dairy Sci.* 102, 1788-1802. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14911>
10. Estellé J (2019): Benefits from the joint analysis of host genomes and metagenomes: Select the holobiont. *J Anim Breed Genet.* 136, 75–76. DOI: 10.1111/jbg.12383
11. Flachowsky G, Brade W (2007): Potenziale zur Reduzierung der Methan-Emissionen bei Wiederkäuern. *Züchtungskunde* 79, 2007, 417- 465
12. Friedman N, Jami E, Mizrahi I (2017): Compositional and functional dynamics of the bovine rumen methanogenic community across different developmental stages. *Environ. Microbiol.* 19, 3365-3373.
13. Goopy J (2019): Creating a low enteric methane emission ruminant: what is the evidence of success to the present and prospects for developing economies? *Animal Production Science* 59(10), 1769-1776. DOI: 10.1071/AN18457.
14. Goopy J, Donaldson A, Hegarty R et al. (2014): Low-methane yield sheep have smaller rumens and shorter rumen retention time. *British Journal of Nutrition* 111, 578-585.
15. Henderson G et al. (2015): Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Sci. Rep.* 5:14567. doi: 10.1038/srep14567.
16. Hildebrand F, Nguyen TL, Brinkman B et al. (2013): Inflammation-associated enterotypes, host genotype, cage and inter-individual effects drive gut microbiota variation in common laboratory mice. *Genome Biol.* 2013;14(1):R4. Published 2013 Jan 24. doi:10.1186/gb-2013-14-1-r
17. Hristov AN, Oh J, Giallongo F, Frederick TW et al. (2015): An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 112(34), 10663–10668.
18. Huws SA Creevey CJ, Oyama LB et al. 2018): Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. *Front. Microbiol.* 9:2161. doi: 10.3389/fmicb.2018.02161.
19. Karstrup CC, Klitgaard K, Jensen TK, Agerholm JS, Pedersen HG (2017): Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology* 99, 43-47.
20. Kittelmann S, Pinares-Patiño CS, Seedorf H et al. (2014): Two different bacterial community types are linked with the low-methane emission trait in sheep. *PLoS One.* 2014; 9 (7):e103171.
21. Knapp J, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM (2014): Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97, 3231-3261.
22. Lederberg J (2000): Infectious History. *Science* 288, 287–293.

23. Macheboeuf D, Morgavi DP, Papon Y et al. (2008): Dose–response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 335-350.
24. Margulis L (1991): Symbiosis as a source of evolutionary innovation: Speciation and morphogenesis. in: Lynn Margulis und René Fester (Hrsg.): MIT Press, Cambridge MA 1991, ISBN 978-0-262-51990-8
25. Martin C et al. (2009). Methane mitigation in ruminants: From microbe to the farm scale. *Animal*, 4(3), 351–365. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990620>.
26. Moore SG, Ericsson AC, Pooch SE et al. (2017): Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *J Dairy Sci.* 2017;100(6):4953-4960. doi:10.3168/jds.2017-12592
27. Ramayo-Caldas Y, Zingaretti L, Popova M, Estellé J et al. (2020): Identification of rumen microbial biomarkers linked to methane emission in Holstein dairy cows. *J Anim Breed Genet.* 137, 49–59. <https://doi.org/10.1111/jbg.12427>
28. Ross EM et al. (2013) Metagenomic Predictions: From Microbiome to Complex Health and Environmental Phenotypes in Humans and Cattle. *PLoS ONE* 8(9): e73056. doi:10.1371/journal.pone.0073056.
29. Stoeck T, Filker S, Weinisch L (2014): DNA-Sequenzierung in der mikrobiellen Diversitätsforschung. *Biospektrum* 20, 528–530. <https://doi.org/10.1007/s12268-014-0478-2>
30. Tapio I et al. (2017): The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, 7–7.
31. Van Wesemael D et al. (2018): Reducing enteric methane emissions from dairy cattle: Two ways to supplement 3-nitrooxypropanol. *J. Dairy Sci.* 102, 1780–1787.
32. Woese CR (1987): Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 221-271.

Anschrift des Autors

Prof. Dr. habil. Wilfried Brade

TiHo Hannover sowie Norddeutsches Tierzucht-Beratungsbüro

Zur Koppenheide 8

18181 Graal-Müritz (Ostsee)

Email: wilfried.brade@t-online.de