

Individuele bicarbonaatsupplementatie bij melkvee

Een vorm van precisievoeding?

Bea NIVELLE

Promotor: B. Driessen Masterproef ingediend tot het behalen van de
graad van master of science in de
Co-promotoren: S. Van Beirendonck biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde
J. De Sutter Plantaardige en dierlijke productie

Academiejaar 2015-2016

© Copyright KU Leuven

Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van zowel de promotor(en) als de auteur(s) is overnemen, kopiëren, gebruiken of realiseren van deze uitgave of gedeelten ervan verboden. Voor aanvragen tot of informatie i.v.m. het overnemen en/of gebruik en/of realisatie van gedeelten uit deze publicatie, kan u zich richten tot KU Leuven technologiecampus Geel, Kleinhoefstraat 4, B-2440 Geel, +32 14 80 22 40 of via e-mail iiw.geel@kuleuven.be.

Voorafgaande schriftelijke toestemming van de promotor(en) is eveneens vereist voor het aanwenden van de in deze masterproef beschreven (originele) methoden, producten, schakelingen en programma's voor industrieel of commercieel nut en voor de inzending van deze publicatie ter deelname aan wetenschappelijke prijzen of wedstrijden.

VOORWOORD

Dat was het dan. Eindwerk afgeleverd, klaar om na vier jaar (hopelijk) af te studeren aan de KU Leuven te Geel als master in de biowetenschappen, optie plantaardige en dierlijke productie. Vier boeiende, leuke jaren. Zowel achter de schoolbanken, als op kot in Geel. Vier jaar waarin we stilaan werden klaargestoomd voor het laatste jaar: het thesisjaar.

Ik had het geluk dat ik het onderwerp van mijn voorkeur mocht behandelen, namelijk individuele bicarbonaatsupplementatie bij melkvee. Hoewel ik niet op een landbouwbedrijf ben opgegroeid, heb ik van thuis uit wel de sympathie voor de sector meegekregen.

Dankzij deze thesis heb ik veel bijgeleerd. Ik ben hiervoor dank verschuldigd aan iedereen die mij met raad en daad bijstond in de voorbereiding en uitvoering van mijn thesis. Graag wil ik dan ook enkele mensen bedanken. Mieke Vander Schueren, bedankt dat ik een dag met u mee op stap mocht om te leren om met andere ogen naar een koe te kijken. Dit was een zeer leerrijke en leuke ervaring en het heeft mij goed op weg geholpen. Het ganse team van het Proef- en Vormingscentrum voor de Landbouw te Bocholt en Rob Ramaekers in het bijzonder: bedankt voor de hulp, en om zowel in als langs de stal mijn vele vragen te beantwoorden. Joni De Sutter van Orffa wil ik bedanken voor de geboden hulp en aangename samenwerking. Mijn dank gaat eveneens uit naar mevrouw Van Beirendonck, mijnheer Driessen en mijnheer Van Thielen voor de hulp bij het opstarten van de proef en de verwerking van de resultaten die eruit voortkwamen. Mijn vrienden/klasgenoten en kotgenoten, wil ik bedanken voor de leuke, onvergetelijke momenten, maar ook de hulp en steun die we aan elkaar hadden.

Tot slot wil ik zeker mijn ouders bedanken, zonder wie ik deze studie niet had kunnen aanvatten. Een *dikke merci* aan mijn ouders, zus, broer en tante Anita om mij onderweg zoveel te helpen en te steunen wanneer nodig. Had ik een vraag, moest ik last-minute aan de trein worden opgehaald of nog zoveel meer. Jullie stonden altijd klaar. En *last but not least* wil ik mijn vriend Brecht bedanken om mij te helpen, te ondersteunen en op te beuren wanneer ik daar nood aan had.

Allemaal heel erg bedankt, het wordt geapprecieerd!

Hoeselt, 2016

Béke Nivelles

INHOUDSTAFEL

VOORWOORD	3
INHOUDSTAFEL	4
SAMENVATTING	6
PUBLICIEERBAAR ARTIKEL	6
LIJST VAN FIGUREN EN ILLUSTRATIES	7
LIJST VAN BIJLAGEN	12
LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN	13
INLEIDING	14
1 LITERATUURSTUDIE	15
1.1 Micro-organismen in de pens	15
1.1.1 Pensomstandigheden	15
1.1.2 Verscheidenheid aan micro-organismen in de pens	16
1.1.3 Onderlinge interactie	23
1.2 Voederafbraak in de pens	24
1.2.1 Voeropname	24
1.3 Voedergelateerde aandoeningen	25
1.3.1 Ketose	25
1.3.2 Pensverzuring	32
2 MATERIAAL EN METHODE	40
2.1 Doel	40
2.1.1 Onderzoeksvragen	40
2.2 Proefopzet	40
2.2.1 Dieren	40
2.2.2 Experiment	41
2.2.3 Bicarbonaatverstrekking	45
2.2.4 Onregelmatigheden	46
2.3 Metingen en analyses	46
2.3.1 Pens-pH en -temperatuur	46
2.3.2 Beelden voeropname	47
2.3.3 Lichaamsgewicht	47
2.3.4 Lichaamsconditiescore	47
2.3.5 Meststalen	48
2.3.6 Melkproductieregistratie (MPR)	50
2.3.7 Gegevens melkrobot	50

2.4	Statistische verwerking.....	50
3	RESULTATEN.....	52
3.1	Beschrijvende statistiek.....	52
3.1.1	Dieren	52
3.1.2	Bicarbonaatgift	53
3.1.3	Voeropname	54
3.2	Verwerkende statistiek.....	54
3.2.1	Melkparamaters	54
3.2.2	Lichaamsconditie	61
3.2.3	Mestparameters	63
3.2.4	Pens-pH.....	66
3.2.5	Relaties.....	68
4	DISCUSSIE.....	69
4.1	Melkparameters.....	69
4.1.1	Melkproductie.....	69
4.1.2	Melkvetgehalte	71
4.2	Lichaamsconditie.....	71
4.3	Mestparameters.....	73
4.3.1	Drogestofgehalte en droog vezelgehalte.....	73
4.3.2	Mest-pH	73
4.4	Pens-pH	74
	CONCLUSIE.....	75
	LITERATUURLIJST	77
	BIJLAGEN	90

SAMENVATTING

Herkauwers onderhouden een symbiotische relatie met micro-organismen om energie en nutriënten uit moeilijk verteerbaar plantaardig materiaal te kunnen halen. Het pensmicrobioom bestaat uit een enorme verscheidenheid aan bacteriën, archaea, protozoa, fungi en bacteriofagen om deze functie te vervullen. Deze organismen interageren zowel onderling als met pensomstandigheden. Dat maakt het pensecosysteem bijzonder gevoelig voor veranderingen.

Ketose en pensverzuring zijn belangrijke voedergerelateerde aandoeningen in de melkveehouderij. Ketose is een metabole aandoening die optreedt bij onvoldoende aanpassing aan een negatieve energiebalans. Klinische ketose gaat gepaard met uitwendige symptomen en secundaire aandoeningen zoals lebmaagverplaatsing, subklinische ketose niet. Toepassing van propyleenglycol kan zowel preventief als curatief nuttig zijn.

Pensverzuring wordt veroorzaakt door een overmaat aan snel fermenteerbare koolhydraten in het rantsoen. Acute pensverzuring ontstaat na plotse opname van grote hoeveelheden snel fermenteerbare koolhydraten. Hierdoor accumuleert lactaat in de pens en daalt de pens-pH. Acute pensverzuring gaat gepaard met duidelijke symptomen en secundaire aandoeningen zoals klauwbevangingen en polioencephalomalacia. Subacute pensverzuring ontstaat door onvoldoende structuur in het rantsoen en treft vaak de hele kudde. Diagnose van subacute pensverzuring is het eenvoudigst op koppelniveau door gebrek aan duidelijke symptomen bij individuele dieren. Een goed beheer van het rantsoen en eventueel toedienen van voederadditieven is de beste manier om pensverzuring te voorkomen. De behandeling bestaat uit oraal of intraveneus toedienen van buffers.

In het huidige onderzoek werd de invloed van natriumbicarbonaat op de melkproductie onderzocht. Dagelijks werd 250 g natriumbicarbonaat, verwerkt in een korrel, aangeboden in de melkrobot aan de helft van de proefdieren. Door onvoldoende dosering van smaakstof in de korrel, namen de proefdieren de bicarbonaatkorrel en de rest van hun krachtvoer niet naar behoren op. Er werden in deze proef vooral effecten van een verminderde krachtvoeropname waargenomen, in plaats van effecten van natriumbicarbonaatsupplementatie. Toch werd er ook een voorzichtig positieve invloed van de bicarbonaatverstrekking op de pens-pH waargenomen. Deze proef onderstreept het belang van maskering van de natriumbicarbonaatsmaak bij supplementatie van natriumbicarbonaat in het krachtvoer.

Natriumbicarbonaat - Pensbolus - Pensverzuring - SARA

PUBLICIEERBAAR ARTIKEL

INDIVIDUELE NATRIUMBICARBONAATTOEDIENING IN DE STRIJD TEGEN PENSVERZURING?

Door de afschaffing van het melkquotum en de slabbakkende melkprijs, is een optimale melkproductie belangrijker dan ooit. Om het melkvee alle kansen te geven om maximale producties te behalen, worden stevige porties krachtvoer voorzien. Bij een rantsoen met relatief weinig vezels neemt het risico op pensverzuring toe.

Pensverzuring is een voedergerelateerde aandoening die voorkomt als herkauwers een rantsoen consumeren met te weinig structuur. De koe moet dan minder herkauwen en produceert dus minder speeksel. Speeksel bevat buffers die de zuurtegraad van het pensvocht reguleren. Krachtvoer wordt in de pens snel gefermenteerd door micro-organismen. De vluchtige vetzuren die daarbij vrijkomen, moeten de pens via de penswand verlaten. Indien de penswand het verteringstempo van de micro-organismen echter niet kan bijhouden, accumuleren de vluchtige vetzuren. Als er dan onvoldoende buffer via het speeksel in de pens terecht komt, verzuurt de pens en ontstaat er pensverzuring.



periode: afkalven, omschakeling naar lactatie, verminderde voeropname, verhoeken,... Daarbij is de pens aangepast aan het droogstandrantsoen, dat minder rijk is aan energie dan het lactatievoer. Rond de piekproductie ontstaat subacute pensverzuring eerder na managementfouten: te weinig voeren waardoor de dieren grote porties voer ineens opnemen, structuurtekort door te erg verhoekseld ruwvoer of een teveel aan krachtvoer aanbieden. Het risico op pensverzuring neemt ook toe als de koeien de energierijke fracties aan het voerhek uitslecteren en daardoor minder structuur opnemen.

Orffa, de onderzoeksgroep Dier&Welzijn KU Leuven/Thomas More en het Proef- en Vormingscentrum voor de Landbouw te Bocholt startten een proef op in verband met het gebruik van natriumbicarbonaat in de strijd tegen pensverzuring. Natriumbicarbonaat werd verwerkt in een korrel voor toediening in de melkrobot. Zo wordt het in de toekomst misschien mogelijk om de natriumbicarbonaatgift af te stemmen op de behoeften van de individuele dieren.

Risicofactoren en symptomen

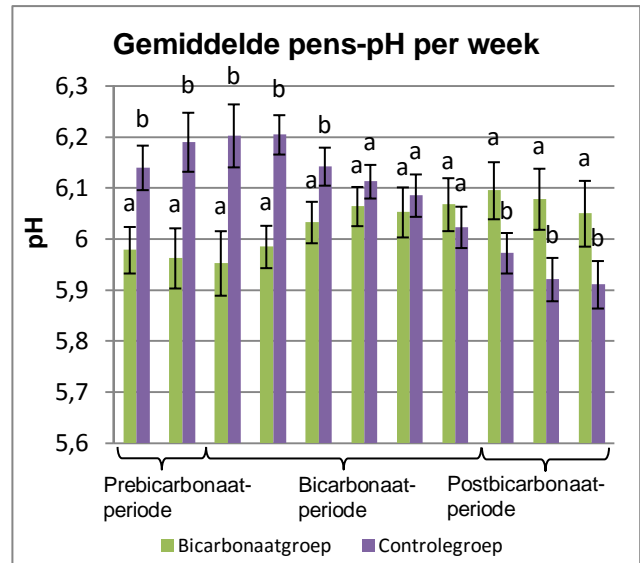
Pensverzuring kan zowel acuut als subacuut voorkomen. Vooral subacute pensverzuring is een groot probleem in de melkveehouderij. Deze variant van pensverzuring ontstaat door een tekort aan vezels of een te snelle verandering van het krachtvoergehalte in het rantsoen. Vooral vroeg in de lactatie of rond de piekproductie lopen melkkoeien een hoger risico op pensverzuring. De periode rond het afkalven is voor de koeien een stresserende

Bij subacute pensverzuring zijn de symptomen erg subtiel: onregelmatige voeropname, lagere melkproductie, lager melkvetgehalte, lusteloosheid, slechte lichaamsconditie en verminderde vertering van vezels. Daarnaast kunnen ook klauwbevangenheid, diarree, pensontsteking en leverabcessen een aanwijzing zijn. Deze symptomen verschijnen niet altijd en vaak pas enkele weken na het ontstaan van de pensverzuring.

Proef

Er werden 46 koeien geselecteerd met verschillende pariteiten in vroege tot midden lactatie. Twee weken werden de koeien opgevolgd zonder behandeling tijdens de prebicarbonaatperiode. Dan volgden zes proefweken, de bicarbonaatperiode. Daarna werden de dieren nog drie weken opgevolgd, de postbicarbonaatperiode. Gedurende de bicarbonaatperiode kreeg de helft van de koeien, de bicarbonaatgroep, dagelijks 250 g natriumbicarbonaat toegediend via de bicarbonaatkorrel bij het krachtvoer. De korrel bestond deels uit natriumbicarbonaat, deels uit eiwitkern. Om de smaak van natriumbicarbonaat te verdoezelen werd er een smaakstof aan de korrel toegevoegd. De andere helft van de koeien, de controlegroep, bleven hun normale rantsoen consumeren.

Twaalf koeien kregen op de eerste proefdag een bolus opgeschoten die de pens-pH meet. Van twintig koeien werd er viermaal een meststaal genomen. Deze dieren werden ook driemaal gewogen. Wekelijks werd van alle dieren de lichaamsconditiescore (BCS, *body condition score*) bepaald. Verder werden er gegevens uit de melkproductieregistratie en het managementprogramma van de melkrobot gebruikt. Tijdens de eerste twee



Figuur 1.1 Gemiddelde pens-pH per week en per behandelingsgroep

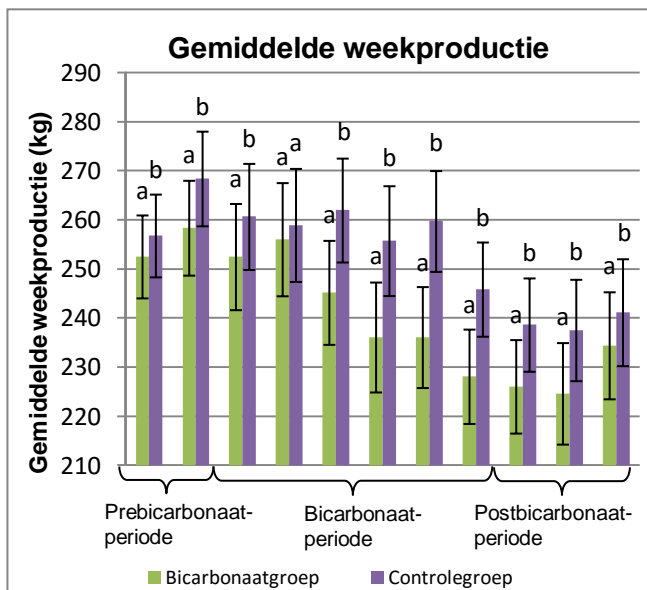
weken dat de bicarbonaatkorrel werd toegediend, werden de koeien in de robot gefilmd om de krachtvoeropname in te schatten.

Resultaten

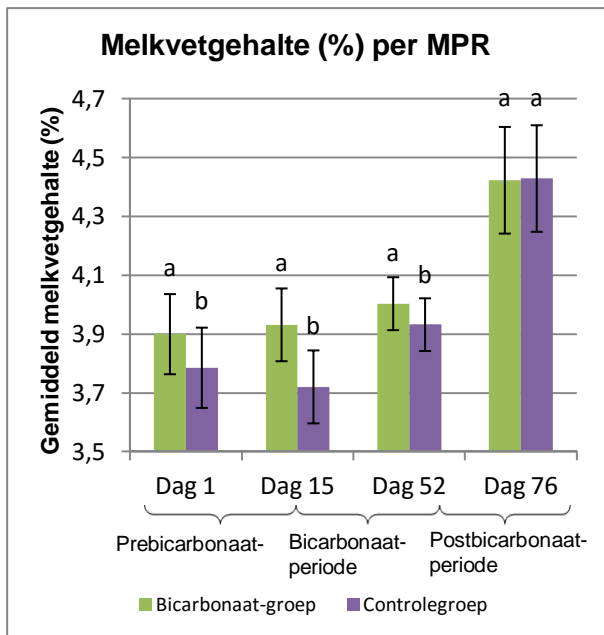
Tegen alle verwachtingen in, produceerden de bicarbonaatkoeien slechter dan de controlekoeien. De melkproductie (Figuur 1.2) van de koeien die bicarbonaat toegediend kregen daalde sterker dan de melkproductie van de controlekoeien. In de prebicarbonaatperiode verkleinde het verschil tussen de twee behandelingsgroepen weer. Uit de camerabeelden bleek dat de koeien die de bicarbonaatkorrel kregen hun krachtvoer duidelijk minder goed opnamen.

De pens-pH (Figuur 1.1) evolueerde voor de twee behandelingsgroepen tegenovergesteld. De koeien die de bicarbonaatkorrel kregen vertoonden een stijgend pH-verloop tijdens de bicarbonaatperiode, de controlekoeien een dalend verloop.

Het melkvetgehalte (Figuur 1.3) nam tijdens de bicarbonaatperiode sterker toe bij de controledieren dan bij de bicarbonaatdieren. Het melkvetgehalte bleef bij de bicarbonaatdieren nog net hoger.



Figuur 1.2 Gemiddelde melkproductie per week en per behandelingsgroep



Figuur 1.3 Gemiddeld melkvetgehalte per MPR per behandelingsgroep

De oorzaak van de onverwachte melkproductieresultaten werd achterhaald. Bij de productie van de bicarbonaatkorrel was er iets misgelopen: de smaakstof was in 50 maal lagere dosering aanwezig dan voorzien was. Aangezien de bicarbonaatkorrel en het krachtvoer samen werden aangeboden, namen de bicarbonaatkoeien ook minder krachtvoer op. Krachtvoer dat de bicarbonaatdieren niet opnamen, bleef in de robot achter. Camerabeelden bevestigden dat dagelijks een aantal keer controledieren de restportie van een bicarbonaatkoe konden verorberen bovenop hun portie krachtvoer. Doordat de eigen portie krachtvoer er nog bijkwam, werd de bicarbonaatkorrel als het ware verdund en mogelijk verminderde dit de

onaangename smaak van de bicarbonaatkorrel gedeeltelijk.

De controledieren namen dus meer krachtvoer op dan de bicarbonaatdieren. Waarschijnlijk daalde de pens-pH van de controledieren door de toenemende portie krachtvoer. De stijging van de pens-pH van de bicarbonaatkoeien was waarschijnlijk te wijten aan de lagere krachtvoeropname tijdens de bicarbonaatperiode. Het was niet mogelijk om na te gaan hoeveel bicarbonaatkorrel de controlekoeien door restvoerjagen konden opnemen. De toediening van natriumbicarbonaat kan tijdens de bicarbonaatperiode hebben bijgedragen aan de pH-toename. Er werd daarentegen geen duidelijk effect van de bicarbonaatverstrekking waargenomen op het melkvetgehalte.

Conclusie

Uit dit onderzoek kan niet met zekerheid worden geconcludeerd dat supplementatie van natriumbicarbonaat de productieresultaten beïnvloedt. Dit ten gevolge van de verminderde krachtvoeropname bij toevoeging van natriumbicarbonaat. Er is wel een voorzichtig positieve invloed van natriumbicarbonaat op de pens-pH vastgesteld. Deze proef toont het belang van smaakmaskering aan bij toediening van natriumbicarbonaat als korrel bij het krachtvoer.

Béke Nivelles

LIJST VAN FIGUREN EN ILLUSTRATIES

Figuur 1.1 Gemiddelde pens-pH per week en per behandelingsgroep	8
Figuur 1.2 Gemiddelde melkproductie per week en per behandelingsgroep	8
Figuur 1.3 Gemiddeld melkvetgehalte per MPR per behandelingsgroep	9
Figuur 1.1 Gemiddeld voorkomen van bacteriële stammen in de pens.....	17
Figuur 1.2 Variatie in procentueel voorkomen van stammen in de pens.....	17
Figuur 1.3 Voorkomen van OTU's in verschillende stalen	19
Figuur 1.4 Het glucose- en vetzuurmetabolisme in levercellen.....	26
Figuur 1.5 De voornaamste ketonlichamen.....	27
Figuur 2.1 Opdeling van de proefdieren in diergroepen.....	41
Figuur 2.2 Overzicht onderzoekacties per diergroep.....	46
Figuur 2.3 Weegkooi gemonteerd op het weegsysteem van de voerbak.....	47
Figuur 2.4 Gewenste lichaamsconditiescore doorheen de lactatie	48
Figuur 3.1 Gemiddelde bicarbonaatkorrelgift per week per diergroep.....	53
Figuur 3.2 Gemiddelde dagproducties van de MPR per behandelingsgroep.	55
Figuur 3.3 Gemiddelde weekproducties per proefperiode en per behandelingsgroep	56
Figuur 3.4 Gemiddelde weekproductie per behandelingsgroep en per week	57
Figuur 3.5 Gemiddeld melkvetgehalte per behandelingsgroep en per MPR	58
Figuur 3.6 Gemiddelde ISK (MPR) per behandelingsgroep.....	59
Figuur 3.7 Gemiddelde ISK (Lely T4C) per behandelingsgroep per proefperiode	60
Figuur 3.8 Gemiddelde ISK (Lely T4C) per week en per behandelingsgroep.....	60
Figuur 3.9 Gemiddelde BCS per proefperiode en per behandelingsgroep	61
Figuur 3.10 Gemiddelde BCS per week en per behandelingsgroep	62

Figuur 3.11 Gemiddeld lichaamsgewicht van de dieren uit de monstergroep per behandelingsgroep en per weegmoment	63
Figuur 3.12 Gemiddelde drogestofgehalte van de mest per behandelingsgroep en per staalname..	64
Figuur 3.13 Gemiddelde mest-pH per staalname per behandelingsgroep	65
Figuur 3.14 Gemiddelde droog vezelgehalte per behandelingsgroep en per staalname..	66
Figuur 3.15 Gemiddelde pens-pH* per behandelingsgroep en per proefperiode.....	67
Figuur 3.16 Gemiddelde pens-pH per week en per behandelingsgroep	67

LIJST VAN BIJLAGEN

Bijlage I: Enkele pensorganismen, gesorteerd op basis van het substraat dat ze gebruiken.....	90
Bijlage II: Tijdlijn proef	91
Bijlage III: Hulptabel bij toekennen BCS	93
Bijlage IV: Beslissingsboom voor het toekennen van BCS aan Holsteinkoeien.....	94
Bijlage V: Gewenste lichaamsconditiescore doorheen de lactatie	95

LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN

BCS	lichaamsconditiescore (<i>body condition score</i>)
BHBA	β -hydroxybutyraat (β -hydroxybutyric acid)
CFB	Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides
ISK	individuele standaardkoe
LCS	lichaamsconditiescore
LGCGPB	Grampositieve bacteriën met een laag G-C gehalte (low G+C% Gram-positive bacteria)
MPR	melkproductieregistratie
NEFA	niet-veresterde vetzuren (non-esterified fatty acids)
OTU	operationele taxonomische eenheid (operational taxonomic unit)
RCC	penscluster C (rumen cluster C)
SARA	subacute pensverzuring (subacute ruminal acidosis)
SCK	subklinische ketose (subclinical ketosis)
TMR	compleet gemengd rantsoen (total mixed ration)
VFA	vluchtige vetzuren (volatile fatty acids)

INLEIDING

Sinds de afschaffing van het melkquotum in april 2015, staat er geen rem meer op de melkproductie: elke liter telt. Dat in combinatie met de lage melkprijs, maakt het voor de melkveehouder belangrijker dan ooit om zoveel mogelijk melk te produceren aan een zo laag mogelijke kostprijs. Een goed management en gezonde dieren zijn belangrijke middelen om dit doel te bereiken.

Ketose en pensverzuring zijn twee voorbeelden van voedergerelateerde aandoeningen die vooral in de transitieperiode en de vroege lactatie optreden. Beide aandoeningen hebben een aanzienlijke impact op de productie van de runderen. Een goed voedermanagement kan deze aandoeningen in belangrijke mate voorkomen (Meissner et al., 2010; Mao, Zhang, Wang & Zhu, 2013; Senthilkumar, Safiullah, Kathiravan, Subramanian & Mani, 2013).

Pensverzuring kan zowel acuut als subacuut voorkomen. Acute pensverzuring treedt op na consumptie van een grote hoeveelheid snel fermenteerbare koolhydraten, waaraan het dier niet is aangepast. Subacute pensverzuring komt voor bij rantsoenen met een relatief groot aandeel snel fermenteerbare koolhydraten. Door een gebrek aan structuur herkauwt het dier onvoldoende en wordt de pens onvoldoende gebufferd. De accumulatie van vluchtige vetzuren doet de pens-pH dalen en daardoor vermindert de vezelafbraak door micro-organismen (Nagaraja & Tigemeyer, 2007; Meissner et al., 2010).

Om goed te produceren, heeft een (hoogproductieve) melkkoe voldoende energie en nutriënten nodig. In deze behoefte wordt voorzien door het aanbieden van krachtvoerders. Bij consumptie van grote porties krachtvoer ligt pensverzuring echter op de loer (Lean, Golder & Hall, 2014). Naast een goed voermanagement, kunnen additieven zoals natriumbicarbonaat helpen de penswerking te stabiliseren. Om efficiënt op de penswerking in te kunnen spelen, moeten eerst de basisprincipes ervan gekend zijn.

1 LITERATUURSTUDIE

1.1 Micro-organismen in de pens

De koe is een herbivoor die zich voedt met vezelrijk, plantaardig materiaal. Door symbiose met micro-organismen en een aangepast verteringssysteem kan de koe, een herkauwer, de moeilijk afbreekbare vezels toch verteren en onverteerbaar plantaardig materiaal omzetten naar voedingsstoffen en energie (Jami & Mizrahi, 2012; Lean, Golder & Hall, 2014).

Bij herkauwers bevindt het gros van de micro-organismen zich in de pens. De pens is een anaerobe 'kamer' met daarin een complex dynamisch microbiëel ecosysteem. De pensmicro-organismen fermenteren voederpartikels en produceren daarbij proteïnen, vitaminen en vluchtige vetzuren die de herkauwer als nutriënten kan absorberen (Li, Penner, Hernandez-Sanabria, Oba & Guan, 2009). Microbiële afbraakproducten zijn verantwoordelijk voor 70% van de totale energieopname van runderen (Flint, Bayer, Rincon, Lamed & White, 2008) en 80% van het verteerbare celwandmateriaal wordt in de pens verteerd (Archimède, Sauvant & Schmidely, 1997). Archimède et al. (1997) toonden aan dat pensmicro-organismen verantwoordelijk zijn voor de productie van 55,06 (\pm 16,65)% van de aminozuren die in de dunne darm terechtkomen. Uit cijfers van Santos, Stern & Satter (1984) blijkt bovendien dat bij toepassing van vier verschillende voederprogramma's (basissamenstelling aangevuld met sojameel, bierbostel of draf, maïsglutenmeel of gedroogde draf) 50% tot 70% van de aminozuren in de dunne darm van microbiële oorsprong zijn.

Het pensmicrobioom bestaat uit een kerngroep organismen, waarvan de samenstelling afhankelijk is van het aangeboden voer, het tijdstip van stalname en tussen dieren onderling, ook al kregen zij hetzelfde voer (Jami & Mizrahi, 2012). Verder zijn de gezondheid, leeftijd en conditie van de gastheer, het seizoen en de geografische condities van belang (Kocherginskaya, Aminov, White & 2001; Edwards, McEwan, Travis & Wallace, 2004; Li et al., 2009; Pers-Kamczyc, Zmora, Cieślak & Szumacher-Strabel, 2011).

1.1.1 Pensomstandigheden

Het pensmicrobioom voert de bioconversie van voeder op regelmatige wijze uit. Nochtans komen er dagelijks miljoenen micro-organismen via voer, lucht en water de pens binnengedrongen. In een gezonde pens verstoren zij de vertering niet. De microbiële samenstelling van het ecosysteem verandert echter wel bij wijziging van het rantsoen. Volgens Kamra (2005) is dit te wijten aan de heersende penscondities, zoals de anaerobe omgeving, hoge buffercapaciteit, hoge osmotische druk en saprofytische competitie tussen microben. Binnengedrongen micro-organismen die niet in staat zijn zich aan deze omstandigheden aan te passen, komen niet tot ontwikkeling (Kamra, 2005).

De pens-pH schommelt bij gezonde runderen tussen 5,5 en 7,0, afhankelijk van wanneer het rund voor het laatst gegeten heeft. Door de regelmatige aanvoer van nieuw voeder en continu afvoeren

van fermentatieproducten en voederresidu's, ontstaat er in de pens een relatief constant milieu met gematigde concentraties vergistingsproducten. De temperatuur in de pens bedraagt 39 à 40°C (Hungate, 1966; Dehority, 2002; Madigan, Martinko, Stahl & Clark, 2012). De osmotische druk ligt rond 250 mOsm/kg en is hypotoon ten opzichte van plasma. Kort na voederen kan de osmotische druk oplopen tot 400 mOsm/kg. De redoxpotentiaal ligt tussen -150 en -350 mV (Dehority, 2002). Aan deze omstandigheden passen heel wat micro-organismen zich aan, met een zeer grote populatie tot gevolg (Hungate, 1966; Dehority, 2002; Madigan et al., 2012). Volgens Hungate (1966) is er geen zuurstofgas aanwezig in de pens. Bij inname van voedsel komt er echter wel zuurstofgas in de pens terecht, maar de facultatief anaerobe micro-organismen verbruiken dit zeer snel zodat anaerobe condities gehandhaafd blijven (Kamra, 2005; Mizrahi, 2013). Andere gassen die in de pens voorkomen zijn CO₂ (65%), CH₄ (27%), N₂ (7%) en H₂ (0,2%) en sporen van CO en H₂S (Dehority, 2002; Mizrahi, 2013).

1.1.2 Verscheidenheid aan micro-organismen in de pens

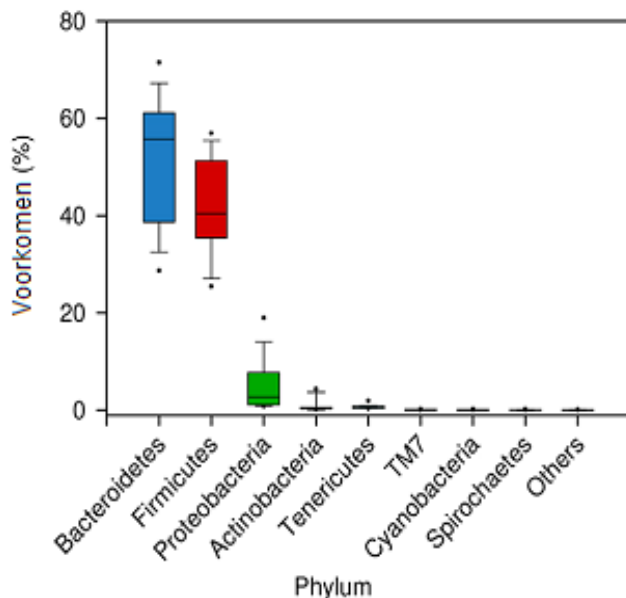
In het microbieel ecosysteem leven bacteriën, protozoa, archaebacteriën, fungi en bacteriofagen. Lean et al. (2014) bevestigden de schattingen van Hobson (1989, in Kamra, 2005) (Tabel 1.1). Kamra (2005) voegde eraan toe dat deze getallen waarschijnlijk een onderschatting zijn omdat het niet mogelijk is om alle pensorganismen in cultuur te kweken. Edwards et al. (2004) toonden aan dat slechts 11% van de gevonden operationele taxonomische eenheden (operational taxonomic unit, OTU) verwante soorten hadden die in cultuur kweekbaar waren. Madigan et al. (2012) bevestigden dit.

Tabel 1.1 De micro-organismen in de pens en hun functie (Lean et al., 2014)

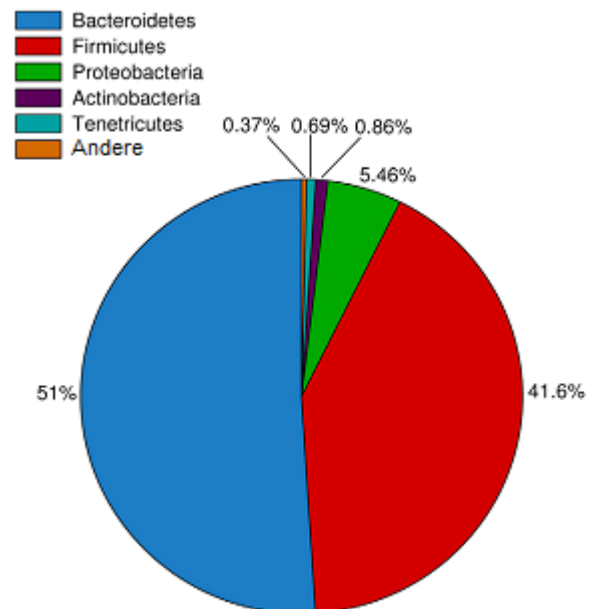
Micro-organisme	Aantal	Functie in de pens
Bacteriën	10 ¹⁰ cellen/ml	Fermenteren en degraderen van substraten en reproductie
Protozoa	10 ⁵ -10 ⁶ cellen/ml	Fermentatie en degradatie van substraten, opnemen van zetmeel, bacteriën en voedselpartikels, reproductie
Archaea	10 ⁷ -10 ⁹ cellen/ml	Metaboliseren van waterstof
Fungi	10 ³ -10 ⁵ zoösporen/ml	Bron van cellulolytische enzymen, vezeldegradatie en -vertering
Bacteriofagen	10 ⁸ -10 ⁹ cellen/ml	Infecteren van bacteriën

Madigan et al. (2012) definiëren een OTU als een groep prokaryoten waarvan het DNA voor meer dan 70% hybridiseerbaar is en meer dan 97% gelijkenis vertoont in de nucleotidensamenstelling van de 16S rRNA-sequentie (Madigan et al., 2012).

Hungate (1966) ziet verschillende mogelijke oorzaken voor deze grote complexiteit aan organismen. Ten eerste bestaat het rantsoen van herkauwers uit diverse componenten. Pensmicro-organismen kunnen zich enerzijds specialiseren in de vertering van één specifieke component, of gaan anderzijds energie winnen uit meerdere nutriënten. Een tweede verklaring, de "selectie voor maximaal biochemisch werk", steunt op de omzettingen van nutriënten in de pens. Bepaalde microbiële afbraakproducten zijn nutriënten voor de gastheer, andere zijn metabolieten die door andere micro-organismen verder worden vergist of uit de pens worden verwijderd als afvalstoffen. Enkel organismen die goed groeien in het complex systeem overleven. Dit is afhankelijk van de beschikbaarheid van voedsel en de efficiëntie in het gebruik daarvan. De metabole paden die de omzettingen het efficiëntst uitvoeren, overheersen. Vaak bevatten deze paden veel individuele reacties, die elk een andere optimale situatie hebben. In eenzelfde microbiële cel zijn de condities veelal niet zo verschillend en zijn slechts een beperkt aantal enzymen aanwezig. Als meerdere organismen samenwerken, zijn de omstandigheden voor de verschillende reacties beter en kunnen de individuele organismen beter groeien. Tenslotte is de verandering van soortensamenstelling in de tijd verantwoordelijk voor de complexiteit van de pensorganismen. De pens bevat veel verschillende niches. Als een organisme zich aanpast aan een niche en zich er vestigt, neemt het organisme bepaalde stoffen op en scheidt metabolieten uit, zodat de niche voor andere organismen verandert. Dit proces vindt voortdurend plaats en geeft organismen die beter in de nieuwe omstandigheden gedijen meer kansen (Margherita & Hungate, 1963; Margherita, Hungate & Storz, 1964; Hungate, 1966).



Figuur 1.2 Variatie in procentueel voorkomen van stammen in de pens. (Jami & Mizrahi, 2012)



Figuur 1.1 Gemiddeld voorkomen van bacteriële stammen in de pens (Jami & Mizrahi, 2012)

1.1.2.1 Bacteriën

Bacteriën vertegenwoordigen 90 à 95% van alle pensorganismen (Brulc et al., 2009). In de pens komen 10^{10} tot 10^{11} bacteriële cellen per g pensvocht voor (Madigan et al., 2012)(Tabel 1.1).

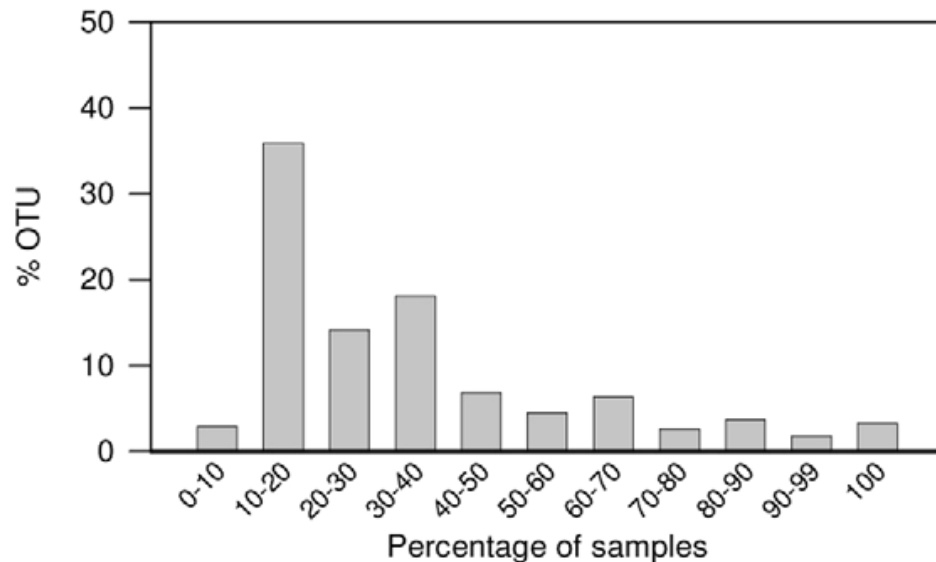
Kim, Morrison & Yu (2011) en Jami & Mizrahi (2012) onderscheidde na analyse van meerdere stalen respectievelijk 4.986 en 5.271 verschillende OTU's op basis van verschillen in de nucleotidensamenstelling. Kim et al. (2011) berekenden hieruit dat het totaal aantal OTU's in de pens mogelijk groter is dan 7.400. Hierbij veronderstelden Kim et al. (2011) en Jami & Mizrahi (2012) dat organismen binnen een OTU 97% nucleotidenovereenkomst vertonen. Het effectieve aantal bacteriesoorten is echter moeilijk te bepalen, mits de variaties in nucleotidensamenstelling binnen eenzelfde soort mogelijk groter zijn dan 5% (Clayton, Sutton, Hinkle, Bult & Fields, 1995).

De overheersende bacteriële stammen in de pens zijn *Firmicutes* en *Bacteroidetes* (Kim et al., 2011; Jami & Mizrahi, 2012) (Figuur 1.1). Madigan et al. (2012) bevestigden dat dit naast de dominantste, ook de meest diverse stammen zijn. Daarnaast komen *Proteobacteria* (5,21%), *Actinobacteria* (0,87%) en *Tenericutes* (0,68%) prominent voor (Jami & Mizrahi, 2012). Kim et al. (2011) kwamen tot een gelijkaardige conclusie, maar noteerden ook *Synergistaceae* en *Spirochaetes* als kleinere, maar prominente stammen.

Analyse van pensstalen wees op merkbare verschillen tussen het aantal taxa binnen *Bacteroidetes* (tussen 26% en 70%), *Firmicutes* en *Proteobacteria* (tussen 0,5% en 20%) bij individuele runderen (Figuur 1.2). De onderzoekers vonden 32 geslachten die terugkwamen in alle 16 onderzochte runderen, de zogenaamde "core community". Per gastheer kan de mate waarin verschillende geslachten voorkomen, variëren. Jami & Mizrahi (2012) toonden aan dat meer dan de helft van de pensbacteriën tot het geslacht *Prevotella* behoren, en slechts 0,1% tot het geslacht *Oscillospira*. Bovendien waren bepaalde geslachten in alle stalen aanwezig, al dan niet in grote hoeveelheden. Dit is mogelijk te wijten aan een belangrijke functie van deze geslachten in de pens, eventueel in een specifieke niche. Verder waren bepaalde soorten bacteriën, waaraan specifieke functies in de pens worden toegeschreven, niet in alle stalen aanwezig. Zo was *Fibrobacter succinogenes* slechts in de helft van de stalen aanwezig, terwijl deze soort als een van de belangrijkste cellulolytische bacteriën wordt beschouwd (Madigan et al., 2012).

Figuur 1.3 geeft weer hoeveel procent van de OTU's voorkwam in een bepaald percentage van de stalen. Ongeveer 50% van de OTU's komt slechts in 0 tot 30% van de stalen voor, minder dan 5% van alle OTU's kwamen bij alle dieren voor. De geslachten *Prevotella* en *Butyrivibrio* en de familie *Lachnospiraceae* kwamen in alle stalen voor. Hoewel de dieren onder strikt dezelfde omstandigheden werden gehouden, is de gelijkenis qua microbiële samenstelling dus niet bijzonder groot: afhankelijk van de berekeningsmethode 51% of 82%. De onderzoekers veronderstellen op basis van data dat veel van de OTU's onderling revolutionaire relaties hebben, vandaar dat een van de gevonden percentages hoger uitvalt. Door de revolutionaire connectie, hebben de OTU's

gelijkaardige genetische opbouw, en kunnen ze gelijkaardige genetische niches bekleden (Jami & Mizrahi, 2012).



Figuur 1.3 Voorkomen van OTU's in verschillende stalen (Jami & Mizrahi, 2012).

Jami & Mizrahi (2012) onderzochten de samenstelling van het pensmicrobioom van 16 Holstein Friesian-koeien, die gedurende enkele maanden hetzelfde dieet ad libitum aangeboden kregen en gedurende 6 weken onder dezelfde experimentele omstandigheden werden gehouden. De waargenomen OTU's werden opgedeeld in categorieën, afhankelijk van in hoeveel procent van de pensstalen de OTU werd gevonden. In de x-as is af te lezen in hoeveel procent van de dieren een OTU werd waargenomen. In de y-as kan worden afgelezen welk percentage van de OTU's in elke categorie vervat zit.

Jami & Mizrahi (2012) benadrukken dat de relatief grote mate van gelijkenis van het pensmicrobioom tussen koeien in hun onderzoek te wijten is aan het feit dat het om dieren van hetzelfde ras en dezelfde kudde ging. Tussen verschillende rassen, kuddes en geografische locaties zullen de verschillen wellicht groter zijn. Gegevens van Edwards et al. (2004) ondersteunen deze stelling. Edwards et al. (2004) analyseerden drie gekloneerde 16S rDNA-bibliotheken. De dieren werden bij deze staalnames niet onder dezelfde condities gehouden voor. De onderzoekers vonden veel sequenties die in slechts een bibliotheek voorkwamen. Slechts 13% van de 177 waargenomen OTU's werd in meer dan een bibliotheek gevonden en slechts vijf OTU's kwamen in de drie voor. Deze vijf OTU's waren verwant met *Clostridium proteoclasticum* of *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ehrlichia ruminantium*, *Prevotella ruminicola* (3,3 tot 7,2% van alle bacteriën) en *P. bryantii*. Dit wijst op een grote verscheidenheid tussen aparte gastheren.

In de stalen van vier runderen die hetzelfde rantsoen aangeboden kregen, behoorden 64% van alle sequenties tot 59 van de 510 OTU's en kwamen ze in alle vier de bibliotheken voor. Tien procent van de sequenties kwamen uit 273 OTU's, en kwamen slechts in een bibliotheek voor. Brulc et al. (2009) veronderstellen op basis hiervan dat de meest talrijk voorkomende organismen in alle vier de bibliotheken aanwezig waren.

Fernando et al. (2010) ontdekten een significant verschil in de bacteriële penssamenstelling tussen een rantsoen met meer krachtvoer en een met meer ruwvoer. Dit verschil is te wijten de aanwezigheid van meer fermenteerbaar materiaal voor zetmeelverterende en amylolytische bacteriën bij het rantsoen met meer krachtvoer.

Bij runderen die gevoed worden met een rantsoen rijk aan ruwvoer, is het merendeel van de bacteriën Gramnegatief. Hoe energierijker het voer, hoe meer Grampositieve bacteriën waargenomen worden. De meeste bacteriën zijn obligaat anaeroob en hebben een lage redoxpotentiaal nodig, sommigen zelfs lager dan -350mV . Dit wijst op een hoge graad van anaërobie. De meeste pensbacteriën die voorkomen in een rantsoen rijk aan ruwvoer, gedijen het best bij een pH tussen 6,0 en 6,9 bij een temperatuur van 39°C . Hun metabolisme is vrij tolerant aan een verhoogd gehalte aan organische zuren (Kamra, 2005). In bijlage I staan een aantal pensmicro-organismen vermeld met het substraat dat ze bij voorkeur fermenteren.

1.1.2.2 Archaea

Het domein van de archaeobacteriën omvat twee stammen: de *Euryarchaeota* en de *Crenarchaeota*. Archaea zijn chemotrofen: ze halen hun energie uit omzettingen van chemische verbindingen. Dit kunnen zowel organische als anorganische verbindingen zoals H_2 zijn (Madigan et al., 2012). Het gros van de archaea in de pens zijn anaeroob en zo goed als allemaal methanogenen (Neves, Kishi, Alves, Ezequiel & Lemos, 2010; Madigan et al., 2012). Ze komen op verschillende manieren in de pens voor: vrij in het pensvocht, gehecht aan voederdeeltjes of het pensepitheel en gehecht aan de binnenkant (endosymbiose) of buitenzijde van protozoa (ectosymbiose) (Janssen & Kirs; 2008). Afhankelijk van de manier van voorkomen, hebben de methanogenen verschillende groeisnelheden. De groeisnelheid hangt onder meer af van de regelmaat waarmee de organismen uit de pens worden verwijderd. Dit staat dan weer onder invloed van het soort voer en de gastheer (Mathison, Okine, Vaage, Kaske & Milligan, 1995 in Janssen & Kirs, 2008).

Methanogenen gebruiken slechts een beperkt aantal eenvoudige substraten waaronder waterstof, mierenzuur of formiaat, methanol, methylamine en acetaat. Voor deze substraten zijn ze afhankelijk van andere organismen, die het plantaardig materiaal tot deze componenten afbreken (Janssen & Kirs, 2008; Stams & Plugge, 2009; Sirohi, Pandey, Singh & Puniya, 2010). Het aantal archaea in de pens ligt tussen 10^7 en 10^9 cellen per milliliter pensvocht, afhankelijk van het type voeder de gastheren consumeren (Tabel 1.1; Kamra, 2005). Tijdens de fermentatieprocessen komt atomaire waterstof vrij in de pens. De methanogenen spelen een belangrijke rol in het verwijderen van die waterstofatomen (Kamra, 2005). Daardoor verlaagt de partiële druk van waterstofgas en worden bepaalde metabole reacties exergoon in plaats van endergoon en kunnen die reacties dus wel opgaan. Op die manier gaat er minder energie verloren bij bacteriële fermentatie. Dit is de basis voor syntrofe relatie tussen archaea en andere pensorganismen (Stams & Plugge, 2009; Mizrahi,

2013). Toch blijft het energieverlies voor de koe door de productie van methaan aanzienlijk: Neves et al. (2010) schatten het energieverlies tussen 3% en 13% van de bruto energieopname.

Neves et al. (2010) bestudeerden sequenties van 16S rDNA om de aanwezigheid en verscheidenheid van archaea in de pens te onderzoeken. Ze namen stalen van runderen die twee verschillende rantsoenen kregen. De ene groep kreeg 70% hooi en 30% geconcentreerd voer (70H:30C) en de andere 30% hooi en 70% geconcentreerd voer (30H:70C). Bij de 30H:70C-groep kwamen meer sequenties van *Methanobacteriaceae* voor (125 ten opzichte van 96 bij de 70H:30C-groep) en minder van onbekende archaea (32 ten opzichte van 60). Het aantal sequenties van niet in cultuur kweekbare archaea bleef nagenoeg gelijk (42 ten opzichte van 47). Kamra (2005) concludeert uit bundelen van eigen informatie met andere gegevens (Jarvis et al., 2000; Joblin, Naylor & Williams, 1990) dat zeven soorten uit vijf geslachten van methanogene archaea algemeen voorkomen in de pens. Het gaat over *Methanobacterium formicum*, *Methanobacterium bryanti*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanosarcina barkeri* en *Methanoculleus olentangyi*. Janssen & Kirs (2008) vonden dat 92,3% van de pensarchaea behoorden tot *Methanobrevibacter* (61,6%), *Methanomicrobium* (14,9%) en een zogenaamde groep RCC (rumen cluster C, 15,8%).

1.1.2.3 Protozoa

Het overgrote deel van pensprotozoa zijn ciliaten, maar er komen meestal ook flagellaten voor in de pens (Bonhomme, 1990; Williams & Coleman, 1992). Per ml pensvocht zijn er 10^5 tot 10^6 van deze organismen aanwezig (Tabel 1.2). Veel ervan zijn obligaat anaeroob, hetgeen onder de eukaryoten over het algemeen zeldzaam is (Williams, 1986; Madigan et al., 2012). Bij anaerobe protozoa spelen hydrogenosomen een belangrijke rol in het energiemetabolisme (Hackstein & Vogels, 1997).

Tabel 1.2 Geschat voorkomen van bacteriën en protozoa in de pens (Demeyer, 1981).

Micro-organisme	Volume (μm^3)	Aantal per ml pensvocht	Biomassa in de pens (%)
Bacteriën	1	$10^{10} - 10^{11}$	33 - 98
Entodiniomorphide protozoa	10^4	$10^5 - 10^6$	1 - 33
Holotriche protozoa	10^6	$10^3 - 10^4$	1 - 33

De pensciliaten worden ingedeeld in groepen op basis van morfologie of substraat dat ze gebruiken. Bij opdeling afhankelijk van het substraat maken wetenschappers onderscheid tussen verbruikers van opgeloste suikers, zetmeelafbrekers en lignocellulose hydrolyserende protozoa (Kamra, 2005). De morfologische groepen, holotrichen en entodiniomorphiden, verschillen metabolisch ook van elkaar. Entodiniomorphide protozoa hebben een stevige pellicula en op enkele uitzonderingen na, enkel cilia aan het peristoom. Ze consumeren vooral voedselpartikels en vezels (Demeyer, 1981).

Bij holotriche protozoa is de pellicula buigzamer en bij de courantst voorkomende bijna volledig bedekt met cilia. Holotriche protozoa gebruiken eerder opgeloste voedingsstoffen en kunnen beter zuurstof verdragen dan de entodiniomorphide protozoa (Williams & Coleman, 1992). Vijftien geslachten van holotrichen zijn bekend als pensorganismen. *Isotricha*, *Dasytricha*, *Buetschlia* en *Charonina* komen het meest voor (Kamra, 2005). Voorbeelden van entodiniomorphide protozoa in de pens zijn de geslachten *Entodinium*, *Eodinium*, *Diplodinium*, *Diploplastro*, *Eremoplastron* en *Polyplastron* (Demeyer, 1981; Bonhomme, 1990; Williams & Coleman, 1992).

Meestal komen meerdere soorten voor in de pens van een gastheer, af en toe is dat slechts tot een of enkele soorten beperkt. Dit is dan veelal te wijten aan een stresssituatie zoals uithongering of pensverzuring. Eens de protozoa verdwenen zijn, moet de gastheer opnieuw met de protozoa in aanraking komen, bijvoorbeeld via contact met andere runderen. Deze organismen hebben immers geen speciale overlevingsstructuren (Williams & Coleman, 1992).

1.1.2.4 Fungi

Anaerobe fungi behoren eveneens tot de pensorganismen (Kamra, 2005; Lean et al., 2014). Denman, Nicholson, Brookman, Theodorou & McSweeney (2008) vermelden dat 18 soorten fungi uit zes geslachten (*Cyllumyces*, *Caecomyces*, *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Orpinomyces* en *Anaeromyces*) gekend zijn als pensfungi. Ze produceren zoösporen en behoren tot de klasse van *Chytridiomycetes* (Trinci et al., 1994; Dehority, 2003 in Mizrahi, 2013). Voor hun energiemetabolisme bezitten ze geen mitochondriën of cytochromen, maar hydrogeosomen (Hackstein & Vogels, 1997; Madigan et al., 2012).

De grootste populaties (tot 8% van de pensbiomassa) van anaerobe fungi komen voor bij dieren die vezelrijk rantsoen consumeren (Bauchop, 1989; Russel & Rychlik, 2001; Dehority, 2003 in Mizrahi, 2013). Door de langere pensverblijftijd van vezelrijk voer, hebben de fungi meer tijd om tot ontwikkeling te komen. De cyclus bevat een beweeglijk zoösporestadium en een stadium waarin de schimmel een vegetatieve thallus heeft. Volgens Orpin (1975) duurt de cyclus van de fungi ongeveer 8 tot 32 uur, Dehority (2003 in Mizrahi, 2013) meent 24 à 32 uur. Als de verblijftijd van het voer in de pens onvoldoende lang is, hebben de schimmels onvoldoende tijd om grote populaties te stichten (Kamra, 2005). De verblijftijd van voer in de pens ligt tussen 20 en 50 uur en is onder meer afhankelijk van het voederschema en de voersamenstelling (Madigan et al., 2012).

De metabole bijdrage van fungi aan de vertering omvat vooral de afbraak van cellulose, hemicellulose en zetmeel. Hiervoor produceren de fungi tal van enzymen, zoals cellulases, xylanases, hemicellulases, esterases en proteolytische enzymen (Gordon & Phillips, 1998). Fungi spelen ook een rol in de afbraak van proteïnen (Dehority, 2003 in Mizrahi, 2013). Kamra (2005) vond bij verwijderen van fungi *in vitro* een vermindering van de gasproductie en verminderde vertering van vezelig voer. De aanwezigheid van andere micro-organismen kan zowel een positief als een negatief effect hebben op de activiteit van de fungi (Mizrahi, 2013). Over het algemeen

hebben pensfungi een klein effect op de vertering, onder meer door bacteriële inhibitie (Dehority & Tirabasso, 2000). De fungi hebben wel een belangrijk effect op de vertering van lignocellulose: ze metaboliseren deze component niet, maar maken het oplosbaar. Dit vereenvoudigt de vertering voor andere micro-organismen (Akin & Borneman, 1990; Mizrahi, 2013). De fungi dringen het plantenweefsel bij voorkeur binnen aan huidmondjes of verwondingen (Orpin, 1977).

1.1.2.5 Bacteriofagen

Per ml pensvocht zijn 10^8 tot 10^9 bacteriofagen aanwezig (Lean et al., 2014). Deze pathogenen zijn gespecialiseerd in het aanvallen en afdoden van bepaalde pensbacteriën. Door het afdoden van de bacteriën, zouden de microbiële proteïnen verder in het verteringsstelsel beter beschikbaar zijn voor de herkauwer (Kamra, 2005). De samenstellingen van de bacteriofagenpopulatie is sterk afhankelijk van de bacteriepopulatie en dus ook verschillend per herkauwer (Kamra, 2005).

1.1.3 Onderlinge interactie

Volgens Kamra (2005) zijn de interacties tussen verschillende micro-organismen en zelfs tussen micro-organismen van dezelfde groep of hetzelfde geslacht zo divers en ingewikkeld is dat het moeilijk is uit te maken welke organismen verantwoordelijk zijn voor bepaalde processen.

1.1.3.1 Protozoa en methanogenen

De ectosymbiotische relatie van bepaalde entodiniomorphide protozoa met methanogenen, waarbij de methanogenen zich aan de buitenkant van de protozoa hechten, steunt op het transport van metabolieten, vooral H_2 , door de celcortex (Vogels, Hoppe & Stumm, 1980). Afhankelijk van wat de beste waterstofbron is voor de methanogenen, het pensvocht of de ciliaten, komt deze symbiotische relatie meer of minder voor. Als er veel voedingsstoffen aanwezig zijn in de pens, dus na de maaltijd of bij het experiment na spoelen met N_2-CO_2 , is de pens de beste substraatbron voor de methanogenen. Bij vasten of als minder substraten in opgeloste vorm in de pens aanwezig zijn, zijn de ciliaten een betere bron doordat ze plantenmateriaal blijven afbreken en dus substraat voor de methanogenen blijven produceren (Stumm, Gijzen & Vogels, 1982). Ook de protozoa hebben voordeel aan de aanhechting: overmaat aan waterstof remt hun metabolisme (Hungate, 1966 in Vogels et al., 1980).

Volgens Kamra (2005) hadden elf soorten entodiniomorphide protozoa, waaronder *Entodinium longinucleatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Entodinium bursa* en *Eremoplastron bovis*, zo'n interactie met methanogenen. Vogels et al. (1980) troffen deze somatische verbindingen aan tussen methanogenen en ciliaten van alle soorten van de geslachten *Diplodinium*, *Epidinium*, *Diploplastron*, *Enoploplastron*, *Entodinium*, *Eremoplastron*, *Ostracodinium*, *Eudiplodinium* en *Polyplastron* die algemeen in de pens voorkomen.

1.1.3.2 Protozoa en bacteriën

Protozoa voeden zich naast voedselpartikels, ook met andere pensorganismen zoals bacteriën of andere protozoa (Eadie, 1967; Kamra, 2005). Bij afwezigheid van protozoa in de pens vertraagt de vertering van cellulose en proteïnen en neemt de productie van methaan en ammonium af. De bacteriënpopulatie groeit, de productie van microbieel eiwit wordt efficiënter en er stroomt meer stikstof door naar de dunne darm. Williams & Coleman (1992) verklaren deze effecten door het normale voedingspatroon van de protozoa: ze voeden zich onder andere met bacteriën. Door fagocytose nemen de protozoa de bacteriën op en doden en verteren hen. Verteringsproducten die de protozoa niet kunnen gebruiken, scheiden ze terug uit in de pens waar de andere pensorganismen de vertering kunnen voltooien. Voor de gastheer betekent deze recycling een verlies van energie en stikstof. Verder in het verteringsstelsel verteert de gastheer de micro-organismen. Volgens Williams & Coleman (1992) zijn protozoa beter verteerbaar voor de herkauwer, maar komen ze trager vrij uit de pens als bacteriën.

1.2 Voederafbraak in de pens

Om de penswerking te kunnen beïnvloeden, moeten de samenstelling en het effect van voeders op de vertering gekend zijn. Volgens Lean et al. (2014) kan een voeder op drie manieren beoordeeld worden:

1. Voederanalyse: kwaliteit van de ingrediënten
2. Voederevaluatie in de stal, weide of melkstal
3. Op basis van productie: melk, melksamenstelling, gewicht en lichaamsscore van de koe,...
 - a. Metingen van de output, inclusief fecale en urinesamenstelling
 - b. Bloedwaarden

Lean et al. (2014) stellen dat voeropname zowel input als output is voor de penswerking. Met input bedoelen de onderzoekers de beschikbaarheid voor de koe, meer bepaald de hoeveelheid voer en de voederfrequentie. De input bepaalt wat de pens te verwerken krijgt en hoe de vertering ervan verloopt. Op die manier is de voeropname ook belangrijk als output van de penswerking.

1.2.1 Voeropname

Voeropname is zowel afhankelijk van eigenschappen van het voer zoals de beschikbaarheid, smakelijkheid, voersamenstelling en verteerbaarheid, als toestand van de koe, bijvoorbeeld lactatiestadium, nutriëntenbehoefte, gewicht van het dier, melkproductie en gewichtstoename. Ook omgevingsfactoren zoals temperatuur en vochtigheid of voedersysteem en -bereikbaarheid spelen een rol. De voeropname daalt als het voer te vezelig of te volumineus is, bij competitie voor ruimte van organen in de onderbuik (bijvoorbeeld bij dracht) of onvoldoende aanwezigheid van essentiële nutriënten in het voer. Ook beperkte toegang tot voeder door competitie tussen dieren, hokgrootte of tijd en ongunstige omgevingstemperatuur en -vochtigheid (hittestress) hebben een negatieve invloed op voeropname (Lean et al., 2014).

Verder heeft de aard van het rantsoen ook invloed op het eetgedrag. Nielsen (1999) hanteert omvang, frequentie en duur van de maaltijden als karakteristieken van het eetgedrag op korte termijn en dagelijkse voeropname en duur van het eten per dag als dagparameters. González, Manteca, Calsamiglia, Schwartzkopf-Genswein & Ferret (2012) beschouwen voederopname en kauwen als twee belangrijke karakteristieken voor het eetgedrag. Door te kauwen verkleint het dier de voedselpartikels en vergroot zo de verhouding oppervlakte-volume. Daarbij worden de anatomische plantstructuren beschadigd en kunnen microbiële enzymen in de pens beter op de partikels inwerken (Pond, Ellis & Akin, 1984).

Voor een optimale pensflora is een vrij constante pens-pH gewenst. De pens-pH staat onder invloed van voedselopname en kauwgedrag. Bij het kauwen speekselt het dier het voedsel in en komt er zo buffer onder de vorm van speeksel in de pens terecht (Beauchemin, McAllister, Dong, Farr & Cheng, 1994). Speeksel bevat een bicarbonaat- en fosfaatbuffer en heeft een pH van ongeveer 8 (Kay (1966) in Mizrahi (2013)). Zo beïnvloeden twee voornoemde factoren, met name voedselopname en kauwgedrag, de dagelijkse zuur-basebalans van de pensvloeistof en daarmee de microflora in de pens (González et al., 2012).

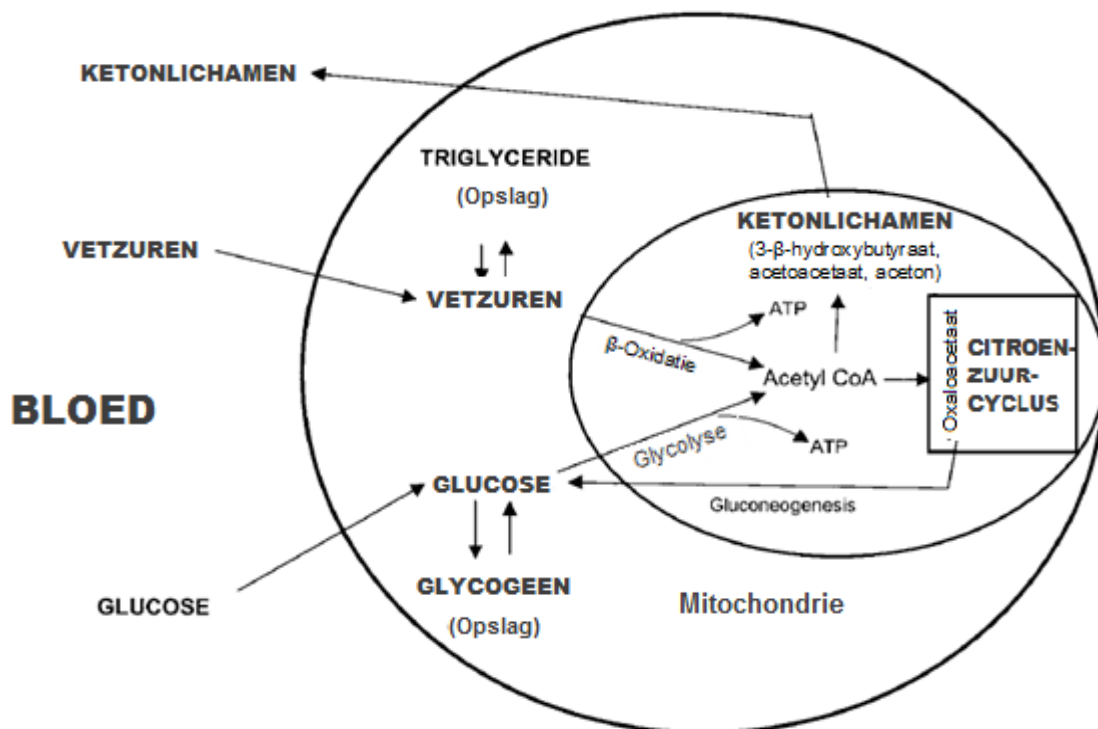
Als de koe voeder opneemt, komt het terecht in het eerste deel van het magencomplex, de pens. Van hieruit kunnen voederpartikels die klein genoeg zijn vrij naar de netmaag of het reticulum (Madigan et al. 2012). Deeltjes die nog te groot zijn keren terug naar de muil om herkauwd te worden. De kleine deeltjes in de netmaag gaan verder naar de boekmaag of het omasum. De volgende stap is het abomasum of de lebmaag. Dit is de zure maag, vergelijkbaar met de maag van een magigen. Hier vindt de vertering van bestendige componenten en microbiële cellen plaats (Madigan et al., 2012).

1.3 Voedergerelateerde aandoeningen

1.3.1 Ketose

Ketose, ook ketonemie, hyperketonemie, acetonemie of slepende melkziekte genoemd, is een metabole aandoening die kan optreden als gevolg van een onvoldoende aanpassing van de koe aan een negatieve energiebalans (McArt, Nydam & Oetzel, 2012; Asrat, Tadesse, Gounder & Nagappan, 2013). De energiebalans is de hoeveelheid opgenomen energie verminderd met de hoeveelheid verbruikte energie. Bij een positieve waarde wordt het energieoverschot opgeslagen in het lichaam, bij een negatieve balans verbruikt de koe haar lichamelijke reserves. Het ontstaan van een negatieve energiebalans is een natuurlijk proces dat zich onder andere voordoet na het afkalven (Serbest, Çinar & Hayirli, 2012). Bij lacterende koeien komt ketose voor in 5% tot 16% van de lactaties (Herdt & Gerloff, 2008), maar veel hangt af van het klimaat, voeding en management (Asrat et al., 2013).

Uit toenemende concentratie van niet-veresterde vetzuren (NEFA, non-esterified fatty acid) in het plasma blijkt dat vooral vetreserves worden aangesproken (Schäff et al., 2013). In de lever zijn er drie opties om energie uit de NEFA te halen: volledige oxidatie, onvolledige oxidatie tot ketonlichamen en reësterificatie tot vetzuren (Herdt, 2000 in Gordon, LeBlanc & Duffield, 2013; Figuur 1.4). De lever kan slechts een beperkte hoeveelheid NEFA volledig oxideren. De producten van de onvolledige oxidatie zijn ketonlichamen (Figuur 1.5), dus bij mobilisering van energiereserves stijgt de vorming van ketonlichamen en de reësterificatie (Herdt, 2000 in Gordon et al., 2013, Schäff et al., 2013). In de skeletspieren vindt dit proces ook plaats. Dit helpt de concentratie van triglyceriden in de lever te verminderen (Schäff et al., 2013).



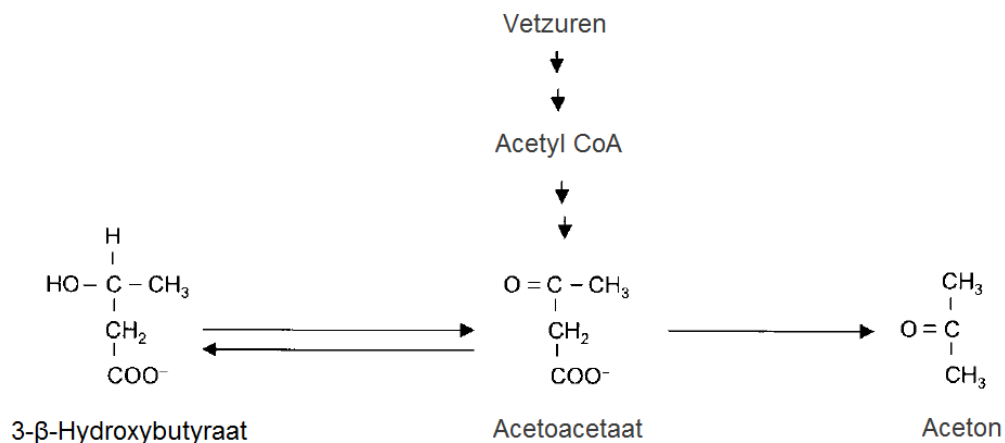
Figuur 1.4 Het glucose- en vetzuurmetabolisme in levercellen (Laffel, 1999)

Bij overschot aan glucose in het bloed slaat de lever het overschot op als glycogeen in de lever. Als de lever energie nodig heeft wordt glucose via de glycolyse omgezet naar acetyl Coenzym A (acetyl CoA). Vetzuren (fatty acids) worden via de vetzuuroxidatie omgezet naar acetyl CoA. In de citroenzuurcyclus reageert acetyl CoA met oxaloacetaat. Als er een tekort aan glucose is en de glycolyse stilvalt, wordt oxaloacetaat voor de gluconeogenese gebruikt. Hierdoor gebeurt er niets meer met het acetyl CoA.

Als, naast de volledige oxidatie, vooral de onvolledige oxidatie van NEFA plaatsvindt, zal de koe eerder ketose ontwikkelen. Waarschijnlijk heeft de beschikbaarheid van glucose ook een invloed op de ontwikkeling van ketose: meer glucose zou eerder reësterificatie stimuleren, mindere beschikbaarheid ervan zou eerder de ketonlichaamproductie in de hand werken (Herdt & Gerloff, 2008). Neigt het merendeel van de omzettingen eerder naar de reësterificatie, is de kans op leververvetting groter (Herdt & Gerloff, 2008).

De glucosevoorziening van de koe is niet zo evident: veel glucose gaat in de pens door microbiële fermentatie verloren voor de koe. Voor de vorming van lactose voor de melkproductie heeft het dier

nog extra glucose nodig ten opzichte van de normale behoefte (Herdt & Gerloff, 2008; Asrat et al., 2013). Door gluconeogenese probeert de koe in deze behoefte te voldoen en zo hypoglycemie te voorkomen (Herdt & Gerloff, 2008; Gordon et al., 2013). Bij koeien met ketose werkt de gluconeogenese vaak minder goed, met als mogelijk gevolg het ontstaan van hypoglycemie (Gordon et al., 2013). Het succes van de gluconeogenese wordt door twee factoren beïnvloed: de maat of het vermogen van productie ervan en substraatbeschikbaarheid. Als de snelheid of het vermogen de limiterende factor is, treedt de ketose vroeg in de lactatie op. Deze vorm van ketose wordt ook wel type II ketose genoemd. Bij type I ketose ontwikkelt de ziekte zich meestal als de koe richting de lactatiepiek gaat. Hier is substraattekort de oorzaak (Herdt & Gerloff, 2008).



Figuur 1.5 De voornaamste ketonlichamen (Laffel, 1999)

Murondoti, Jorritsma, Beynen, Wensing & Geelen (2004) zagen dat er bij melkkoeien die voor het afkalven triglyceriden opstapelden in de lever, een verlaagde activiteit van gluconeogenese was voor het afkalven in vergelijking met de controlegroep. Na het werpen vertoonden enkele belangrijke enzymen van de gluconeogenese lage activiteit bij deze dieren, met onvoldoende glucoseproductie tot gevolg. De onderzoekers suggereren hieruit dat overmatige vetopslag in de lever de levergluconeogenese vermindert en dus type II ketose in de hand werkt.

1.3.1.1 Soorten en symptomen

Ketose kan zowel klinisch als subklinisch voorkomen. Gordon et al. (2013) definiëren in hun onderzoek subklinische ketose als het voorkomen van verhoogde concentratie van ketonlichamen in bloed, urine of melk. Bij klinische ketose vertoont de koe naast voornoemde, uiterlijk onzichtbare symptomen, ook uitwendig zichtbare symptomen zoals verminderde eetlust, snelle gewichtsafname (type I ketose), droge mest, daling in melkproductie of moedeloos gedrag (Herdt & Gerloff, 2008; McArt et al., 2012). Bij type I ketose zijn de dieren veelal mager, bij type II ketose eerder te dik (Herdt & Gerloff, 2008).

Volgens Herdt & Gerloff (2008) kan ketose zich ook uiten door vreemde gedragingen als gevolg van afwijkingen in het centraal zenuwstelsel. Dit wordt ook wel de nerveuze vorm van ketose genoemd en komt in een minderheid van de gevallen voor. De gedragingen kunnen uiteenlopend zijn:

overgevoeligheid, opgewondenheid, overmatig veel bijten en likken (soms tot het ontstaan van verwondingen bij zichzelf), vreemde manier van lopen, ongecontroleerde bewegingen enzovoorts (Herdt & Gerloff, 2008).

Cameron et al. (1998) stellen dat lebmaagverplaatsing vaak voorkomt bij koeien met ketose. Door de lagere droge stofinname kort voor het afkalven daalt de pensvulling en daarmee het pensvolume. Dit zou de beweeglijkheid van de voormagen verminderen, zodat de kans op lebmaagverplaatsing stijgt. Volgens Herdt & Gerloff (2008) komt leververvetting vaak samen voor met type II ketose.

Itle, Huzzey, Weary & von Keyserlingk (2015) onderzochten of het stagedrag van koeien gerelateerd kon worden met ketose. Ze ontdekten dat koeien die achteraf ketose bleken te hebben, in de week voor de bevalling gemiddeld 20% langer recht stonden dan niet-ketose koeien. Op de dag van het afkalven stonden ze zelfs 35% langer recht.

1.3.1.2 Risicofactoren

De transitieperiode van late dracht naar beginnende lactatie is een zeer belangrijke periode voor hoogproductieve melkkoeien. Tijdens die 6 tot 8 weken vinden tal van belangrijke veranderingen in metabole en biologische processen plaats (Roche, Bell, Overton & Looor, 2013). Uit Tabel 1.3 blijkt dat veel processen toenemen in intensiteit of activiteit en zo dus meer energie kosten. Om die toegenomen energiebehoefte te vervullen, mobiliseert de koe energie uit lichaamsreserves.

McArt et al. (2012) stelden vast dat subklinische ketose (subclinical ketosis, SCK) vroeg in de lactatie ontstaat. Als het dier in de eerste week na het kalven SCK ontwikkelde, was de kans op slechtere gezondheid en verminderde melkproductie groter dan bij ontwikkeling van SCK na de eerste week na het kalven.

Koeien die tweelingen verwachten of een energiearm rantsoen krijgen, zijn vatbaarder voor de ontwikkeling van ketose (Herdt & Gerloff, 2008). Herdt & Gerloff (2008) beweren dat leeftijd weinig invloed heeft op het risico om ketose te ontwikkelen en dat koeien die een vorige lactatie ketose hadden, niet veel meer kans hebben om opnieuw ketose te krijgen. Volgens Asrat et al. (2013) kunnen dieren van elke leeftijd ketose krijgen, maar ze vonden een piek bij dieren in de vierde lactatie.

1.3.1.3 Diagnose

Het vaststellen van subklinische en klinische ketose gebeurt aan de hand van de concentratie van ketonlichamen in het bloed, de melk of de urine en uiterlijke symptomen van de ziekte. De voornaamste ketonlichamen zijn aceton, β -hydroxybutyraat (BHBA) en acetoacetaat (Figuur 1.5). Volgens Zhang, Liu, Wang, Li & Wang (2012) is BHBA het meest geschikte ketonlichaam om metingen op uit te voeren vermits aceton vluchtig is en in lage concentraties voorkomt. Acetoacetaat is een onstabiele verbinding en daardoor minder geschikt.

Tabel 1.3 De belangrijkste veranderingen in biologische processen of metabolismen bij de overgang van dracht naar lactatie bij rundvee (Ingvarsen, 2006)

Proces of metabolisme	Reactie	Betrokken weefsel
Melkproductie	↑ Aantal secretiecellen	Uier
	↑ Bloedcirculatie	
	↑ Nutriëntenconsumptie	
Vetmetabolisme	↓ <i>De novo</i> vetsynthese	Vetweefsel
	↓ Absorptie van vetzuren	
	↓ Esterificatie van vetzuren	
	↑ Lipolyse	
	↑ Gebruik van lipiden als energiebron	Ander lichaamsweefsel
Glucosemetabolisme	↑ Leveromvang	Lever
	↑ Bloedcirculatie	
	↑ Mate van gluconeogenese	
	↓ Gebruik van glucose als energiebron	Ander lichaamsweefsel
Proteïnemetabolisme	↓ Proteïnesynthese	Spierweefsel
	↑ Proteolyse	
	↑ Proteïnesynthese	Ander lichaamsweefsel
Mineralenmetabolisme	↑ Absorptie	Darm
	↑ Mobilisatie	Beenderen
Voeropname	↑ Voeropname	Centraal zenuwstelsel
Spijsvertering	↑ Hypertrofie van het spijsverteringskanaal	Spijsverteringskanaal
	↑ Absorptiesnelheid en -capaciteit	
	↑ Metabole activiteit	
Bloedcirculatie	↑ Uitvoer van bloed uit het hart	Hart
	↑ Transport naar de uier	
	↑ Transport naar het maagdarmstelsel, incl. de lever	

In de praktijk gebeurt de vaststelling van ketose veelal met semikwantitatieve tests zoals verkleuringsstrips. Enjalbert, Nicot, Bayourthe & Moncoulon (2001) onderzochten de link tussen verschillende ketonlichamen in melk en bloed en vanaf welke concentraties er sprake was van subklinische ketose. De meting van de ketonlichamen gebeurde zowel in bloed als in melk. Ze vergeleken deze resultaten met de uitslag van een Ketolacstrip. Enjalbert et al. (2001) hanteerden 1200 μmol BHBA /L in het bloed als grenswaarde voor SCK. Ze concludeerden dat de Ketolacstrip de concentratie van BHBA in melk overschatte, maar wel eenvoudige en daardoor waardevolle test is voor de bepaling van SCK. De beste verhouding tussen sensitiviteit en specificiteit werd waargenomen bij de bepaling van de concentratie van acetoacetaat in bloed en in melk. De grenswaarden voor SCK waren dan respectievelijk 125 en 50 $\mu\text{mol/L}$. De grenswaarden bij bepaling van BHBA in melk via enzymatische analyse of Ketolacstrip werden vastgesteld op respectievelijk 70 en 100 $\mu\text{mol/L}$. McArt, Nydam, Ospina & Oetzel (2011) en McArt et al. (2012) beschouwden

eveneens 1200 μmol BHBA/L in het bloed als grenswaarde voor SCK. Vanaf 3000 μmol BHBA/L in het bloed spraken zij van klinische ketose. Itle et al. (2015) namen tweemaal per week bloedstalen en stelden ketose vast op basis van drie bloedstalen. Dieren met drie stalen met een BHBA-concentratie tussen 1,2 mmol/L en 2,9 mmol/L werden beschouwd als lijdend aan subklinische ketose. Als de gemeten BHBA-concentratie telkens groter dan 1,2 mmol/L en minstens eenmaal groter dan 2,9 mmol/L was, was de diagnose klinische ketose.

1.3.1.4 Behandeling

De vorm van ketose en de ernst van de symptomen bepalen de behandeling (Herdt & Gerloff, 2008). Bij type I ketose, dus ketose die optreedt rond mid-lactatie, slaat de behandeling meestal goed aan op voorwaarde dat het rantsoen van de dieren wordt aangepast. Type II ketose is hardnekkiger (Herdt & Gerloff, 2008).

De behandeling van ketose is gebaseerd op het wegnemen van de ontstaansoorzaak, dus de productie van ketonlichamen remmen door het wegnemen van de negatieve energiebalans. Dat kan door glucose toe te dienen, de gluconeogenese te stimuleren en de vetafbraak te verminderen (Herdt & Gerloff, 2008; Gordon et al., 2013).

Gordon et al. (2013) bundelden informatie uit tal van onderzoeken en onderzochten de impact van verschillende behandelingen. Behandelingen met dextrose, glucocorticoïden, insuline, een vitamine B₁₂/fosfor-combinerend product, propyleenglycol en een combinatie van verschillende therapieën werden onderzocht. De enige behandeling die volgens Gordon et al. (2013) zowel ketose aanpakt als de gezondheid en productiviteit van de koe opkrikt, is het oraal toedienen van propyleenglycol (McArt et al., 2011). Voor dieren die aan nerveuze ketose lijden, is een eenmalige intraveneuze injectie van 500 ml 50% dextrose nuttig (Gordon et al., 2013).

1.3.1.4.1 Propyleenglycol

Volgens Allen, Bradford & Oba (2009) is orale toediening van precursoren voor de gluconeogenese, zoals propyleenglycol of calciumpropionaat, een van de populairste behandelingen voor ketose. Koeien die een propyleenglycolbehandeling ondergingen, genazen van subklinische ketose en hadden verminderde kans om klinische ketose te ontwikkelen dan controlekoeien (McArt et al., 2011). McArt et al. (2011) stelden vast dat in sommige kuddes de melkgift tijdelijk groter was in de eerste 30 dagen van de lactatie.

Gordon et al. (2013) adviseren vijf opeenvolgende dagen eenmaal per dag een dosis van 300 g propyleenglycol toe te dienen als basisbehandeling voor ketose. De onderzoekers baseren zich hiervoor op onderzoek van McArt et al. (2011) en Nielsen & Ingvarsten (2004), maar geven aan dat dit advies nog onderzoek vereist om op een efficiëntere manier toe te passen. De nodige werkelijk vereiste duur van de toepassing is nog onzeker, maar McArt et al. (2011) behaalden met een toepassing van gemiddeld 5 (tussen 2 en 13) dagen positieve resultaten. Bij toepassing van

propyleenglycol kunnen neveneffecten zoals verminderd bewustzijn, incoördinatie, overmatig speekselen, hyperventilatie, slaperigheid of depressies optreden (Nielsen & Ingvarsten, 2004; Herdt & Gerloff, 2008). Neveneffecten traden vooral op na het toedienen van hogere dosissen (> 500 g/dag) (Nielsen & Ingvarsten, 2004). Hindhede (1976, in Nielsen & Ingvarsten, 2004) constateerde bij toediening van 40 g propyleenglycol per dag bij 300 dieren enkele koeien met neveneffecten. Deze effecten verdwenen na een aanpassingstijd van 3 à 4 dagen.

Voor toediening van propyleenglycol zijn er meerdere mogelijkheden: mengen onder het voer of rechtstreeks in de muil inspuiten. Door de minder goede smaak van het product, kan de voeropname dalen bij mengen van propyleenglycol onder het voer. Rechtstreeks in de muil inspuiten is arbeidsintensiever (Miyoshi, Pate & Palmquist, 2001; Nielsen & Ingvarsten, 2004). Toevoeging van smaakstoffen of menging van propyleenglycol met krachtvoer kan de smaak verdoezelen (Nielsen & Ingvarsten, 2004).

Emery, Brown & Black (1967) toonden aan dat propyleenglycol goed verteerbaar is. Daaruit volgt dat het hoofdzakelijk uit de pens verdwijnt door absorptie of fermentatie (Nielsen & Ingvarsten, 2004). Pensmicro-organismen fermenteren propyleenglycol, via een meerstapsreactie, tot onder andere pyrodruivenzuur. Via omzetting van pyrodruivenzuur naar oxaloacetaat kan deze stof als substraat voor de gluconeogenese dienen (Emery et al., 1967; Clapperton & Czerkawski, 1972; Figuur 1.4). Na absorptie treedt propyleenglycol onmiddellijk de citroenzuurcyclus binnen, en stimuleert zo gluconeogenese (Gordon et al., 2013). Dit leidt tot een stijging van het insulinegehalte in het bloed, die langer dan twee uur aanhoudt en zo de vetafbraak helpt tegengaan (Studer, Grummer & Bertics, 1993; Gordon et al., 2013).

1.3.1.5 Preventie

Propyleenglycol doet de concentratie van NEFA in het bloed en de triglycerideninhoud van de lever dalen en de glucoseconcentratie in het bloed toenemen. Hieruit concludeerden Nielsen & Ingvarsten (2004) dat propyleenglycol antiketogene eigenschappen bezit. De onderzoekers vermoeden dat propyleenglycol het risico op de ontwikkeling van ketose kan verminderen.

Er is in de sector een groeiende vraag naar voederadditieven die propyleenglycol bevatten om de arbeidslast te drukken (Nielsen & Ingvarsten, 2004; Gordon et al., 2013). Sauer, Erfle & Fisher (1973) pasten propyleenglycol toe bij koeien met normale concentraties van glucose en ketonlichamen in het bloed en vrije vetzuren in het plasma. Bij toedienen van hoeveelheden propyleenglycol tot 9% van de krachtvoergifft vonden de onderzoekers geen positieve of negatieve effecten. Ze stelden dat zelfs lage propyleenglycoltoediening, 3% tot 6% van krachtvoergifft, de kans op ketose kan verlagen.

1.3.2 Pensverzuring

Pensverzuring is een verzamelnaam voor verschillende aandoeningen gerelateerd aan te lage pens-pH, met als gevolg verminderde vertering van vezels en mogelijk verminderde melkproductie (Beauchemin & Penner, 2009). Nagaraja & Titgemeyer (2007) stellen dat pensverzuring wijst op een onbalans tussen microbiële productie, microbiel verbruik en de absorptie van organische zuren in de pens. Te sterke of te langdurige daling van de pens-pH heeft een negatieve invloed op het pensecosysteem, de fermentatieproducten, de pensbeweeglijkheid en het absorptievermogen van de pens (Nagaraja & Titgemeyer, 2007). Pensverzuring heeft bijgevolg een belangrijke impact op de microbiële activiteit, pensfunctie en de gezondheid en productiviteit van het rund (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

Om de melkproductie te maximaliseren heeft de koe voldoende precursoren nodig. Om aan die vraag te voldoen geven melkveehouders hun dieren voeders waarin deze precursoren in snel fermenteerbare vorm voorkomen. Dit verhoogt echter ook het risico op de ontwikkeling van pensverzuring (Beauchemin & Penner, 2009).

Pensverzuring, vooral subacute pensverzuring (subacute ruminal acidosis, SARA), is een van de belangrijkste voedergerelateerde aandoeningen in de melkveehouderij (Meissner et al., 2010; Mao, Zhang, Wang & Zhu, 2013). Beauchemin & Penner (2009) stellen dat SARA een toenemend probleem is, zelfs bij bedrijven met goed voedermanagement en hoogproductieve dieren. Volgens hen is een zekere mate van SARA zelfs onvermijdbaar bij hoogproductieve runderen. Dit zou komen door de hoge mate van droge stofopname in combinatie met het hoge gehalte aan granen in het lactatierantsoen.

1.3.2.1 Soorten

De twee voornaamste vormen van pensverzuring zijn acute en subacute pensverzuring (SARA, subacute ruminal acidosis). Bij beide aandoeningen is de pens-pH gedurende een bepaalde periode suboptimaal, maar de duur en de oorzaak van de suboptimale pH verschillen (Krause & Oetzel, 2006; Nagaraja & Titgemeyer, 2007). De ernst van de pensverzuring hangt veelal samen met de hoeveelheid, frequentie en de duur van graanconsumptie (Nagaraja & Titgemeyer, 2007). Tabel 1.4 geeft overzichtelijk de vergelijking van de gevolgen van acute en subacute pensverzuring.

Tabel 1.4 Vergelijking van acute en subacute pensverzuring (Nagaraja & Lechtenberg, 2007)

	Acute pensverzuring	Subacute pensverzuring
Klinische symptomen	Aanwezig	Afwezig
Sterfte	Ja	Nee
Veranderingen in de pens		
Fermentatieproducten		
Pens-pH	<5.0	5.0–5.5
Totaal vluchtige	Toegenomen	Toegenomen
Lactaat	Hoog (50–120 mmol)	Normaal (0–5 mmol)
VFA	Initieel hoog, daarna minder dan normaal (<100 mmol)	Hoog (150–225 mmol)
Micro-organismen		
<i>Streptococcus bovis</i>	Initieel toegenomen	Geen verandering
<i>Lactobacillus sp.</i>	Toegenomen	Toegenomen
Lactaatproducenten	Toegenomen	Toegenomen
Lactaatverbruikers	Afgenomen	Toegenomen
Ciliaten	Afwezig of afgenomen	Afwezig of afgenomen
Veranderingen in het bloed		
pH	Afgenomen (<7,350)	Normaal tot licht afgenomen
Lactaat	Toegenomen, vooral D(-)	Normaal
Bicarbonaat	Duidelijke afname (<20 mEq/L)	Normaal tot tijdelijk verminderd
Secundaire aandoening		
Rumenitis	Ja	Ja
Laminitis	Ja	Ja
Polioencephalomalacia	Ja	Ja
Leverabcessen	Ja	Ja

1.3.2.1.1 Subacute pensverzuring

1.3.2.1.1.1 Symptomen

Volgens Owens, Secrist, Hill & Gill (1998) zien dieren die aan subacute pensverzuring of SARA lijden er doorgaans niet ziek uit. De voeropname van dieren met SARA is verminderd en onregelmatiger en de melkproductie en het melkvetgehalte dalen. Zwakke penscontracties, lusteloosheid, een slechte lichaamsconditie en verminderde vertering van vezels worden aan SARA gerelateerd (Owens et al., 1998; Plaizier, Krause, Gohzo & McBride, 2009; Lean et al., 2014). Symptomen zoals klauwbevangingen, diarree, pensontsteking of rumenitis en leverabcessen kunnen voorkomen, hoewel niet alle dieren uiterlijke symptomen vertonen (Plaizier et al., 2009).

Deze secundaire symptomen verschijnen vaak pas een aantal weken na het ontstaan van SARA (Nordlund, 2003; Enemark, 2009).

Mao et al. (2013) bestudeerden de verandering van de bacteriële populatie in de pens bij SARA. Over het algemeen verminderde de bacteriële diversiteit in de pens. *Proteobacteria* en *Bacteroidetes* namen af in aantal, terwijl *Firmicutes* en *Actinobacteria* talrijker voorkwamen. De geslachten *Prevotella*, *Treponema*, *Anaeroplasma*, *Papillibacter*, *Acinetobacter* en ongeclassificeerde *Lentisphaerae* kwamen minder voor, *Ruminococcus*, *Atopobium* en ongeclassificeerde *Clostridiales* en *Bifidobacterium* namen toe. *Lactobacillus* spp. en *Streptococcus bovis* komen veel voor bij dieren met SARA (Mao et al., 2013).

1.3.2.1.1.2 Risicofactoren

Zebeli & Metzler-Zebeli (2012) omschrijven subacute pensverzuring of SARA als een metabole aandoening die door een te hoog gehalte aan snel fermenteerbare koolhydraten wordt veroorzaakt. Daardoor bevat het rantsoen onvoldoende structuur (Zebeli & Metzler-Zebeli, 2012; Kleen, Hooijer, Rehage & Noordhuizen, 2009). Door gebrek aan vezels passeert het voer sneller door de pens en wordt er minder herkauwd. Zo komt er minder speeksel in de pens terecht en daalt de pH van de pens door onvoldoende buffering (Stone, 2004; Zebeli & Metzler-Zebeli, 2012). Nagaraja & Titgemeyer (2007) omschrijven SARA als het gevolg van de accumulatie van vluchtige vetzuren in de pens. Als de pens en het pensecosysteem niet zijn aangepast aan het nieuwe voedermanagement, door een te snelle omschakeling of een fout in het voeren, zijn de dieren gevoeliger voor de accumulatie van korteketen vetzuren (Kleen et al., 2009).

De aanpassing van de pens bestaat uit twee facetten: de penswand en de pensmicro-organismen (Oetzel, 2003). Als de penspapillen, die zich op de penswand bevinden, onvoldoende kunnen ontwikkelen, blijven de papillen kleiner en is de dichtheid ervan op de penswand lager (Nordlund, Garrett & Oetzel, 1995 in Kleen et al., 2003; Oetzel, 2003). Reynolds, Dürst, Lupoli, Humphries & Beaver (2004) stelden vast dat de massa penspapillen 21 en 7 dagen voor afkalven kleiner was dan 10 en 22 dagen na afkalven. De absorptiecapaciteit van vluchtige vetzuren kan bij een droogstaande koe 50% lager zijn dan bij een koe in midlactatie (Dirksen, Liebich & Mayer (1985) in Plaizier et al., 2009). Ook de pensmicro-organismen hebben een aanpassingsperiode nodig. Volgens Oetzel (2003) groeit vooral de populatie van de lactaatverbruikende bacteriën trager aan dan de lactaatproducenten.

Kleen, Hooijer, Rehage & Noordhuizen (2003) stellen dat er twee periodes zijn waarbij er een verhoogd risico voor SARA optreedt: kort na afkalven en tijdens mid-lactatie.

De afkalfperiode is een stresserende periode voor de koe: afkalven, omschakeling naar lactatie, verminderde voeropname, verhoeken enzovoorts. Er ontstaat een negatieve energiebalans en het dier mobiliseert lichaamsreserves. Dit uit zich in een verminderde lichaamsconditie, een verhoogd risico op het ontwikkelen van ketose en een verlaagde weerstand (Nocek, 1997; Kleen et al., 2003).

De omschakeling van droogstand naar lactatie gaat vaak gepaard met een overgang naar een rantsoen met hogere energie-inhoud. Bij koeien in de afkalfperiode is de voeropname vrij variabel en daardoor moeilijk in te schatten. Op veel bedrijven komen pasgekalfde dieren onmiddellijk op hetzelfde lactatierantsoen als alle andere dieren. Indien de dieren er dan in slagen het energierijke voer uit het aangeboden rantsoen te selecteren, is de kans op een teveel aan energiedens voer groter (Nocek, 1997; Kleen et al., 2003). In andere gevallen wordt het krachtvoer in het rantsoen te snel opgebouwd in verhouding tot de ruwvoeropname, die vooral in de eerste drie weken na afkalven ontoereikend is (Oetzel, 2003).

In de midlactatie is SARA eerder een gevolg van het management, aangezien de pens reeds is aangepast aan het rantsoen. Voederfrequentie, bewerkingsgraad van het voer en de huisvesting zijn enkele voorbeelden van mogelijke punten waar het fout loopt (Oetzel, 2003; Kleen et al., 2003).

De manier waarop het voeder wordt aangereikt, is zeker zo belangrijk als de chemische samenstelling ervan. Gemalen, gevlokt of geëxtrudeerd graan of graan met een hoog vochtgehalte is sneller afbreekbaar in de pens dan onbehandeld graan. De graankeuze beïnvloedt de vertering eveneens. Tarwe- of gerstzetmeel is sneller beschikbaar dan maïszetmeel en verhoogt het risico dus. Bij kuilvoerders geldt eveneens dat meer of intensievere bewerking leidt tot een betere zetmeelbeschikbaarheid, en dus tot een grotere kans op ontwikkeling van SARA (Oetzel, 2003). Voederfouten, door een verkeerde berekening of vergissing bij het aanbieden kunnen zorgen voor een scheefgetrokken verhouding tussen energierijke en vezelrijke componenten (Kleen et al., 2003). Yun & Han (1989) observeerden bij vier of zes maal kleinere porties krachtvoer voederen een stabielere pens-pH dan bij twee grotere porties. Bij vervoederen van te sterk verhakseld ruwvoer neemt de opname door verhoogde smakelijkheid toe, maar de structuurwaarde neemt sterk af (Kleen et al., 2003).

1.3.2.1.1.3 *Diagnose*

Nordlund (2003) stelt dat diagnose van SARA moeilijk is, omdat de symptomen uiteenlopende oorzaken hebben naast pensverzuring. SARA is een probleem dat zich vaak op het niveau van de kudde situeert. De beschouwing van de hele kudde kan de diagnose vergemakkelijken (Enemark, 2009). Bij diagnose op kuddeniveau bevatten de mest, de melkparameters, het rantsoen en het eetgedrag aanwijzingen over het voorkomen van SARA.

Veel schurende dieren, onverteerde vezels groter dan 1,5 cm in de mest en een lage verhouding vet/proteïne in de melk kunnen wijzen op SARA. Recent vertonen van klinische symptomen (1.3.2.1.1.1) en dieren met gezwollen kroonranden of kreupelheid duiden mogelijk op SARA (Lean et al., 2014).

Bij individuele runderen steunt de diagnose op fysiek onderzoek en nagaan hoe het rantsoen is samengesteld (Kersting, Thompson & Connolly, 2008; Lean et al., 2014). Bij rumenocentesis wordt een pensstaal genomen door met een naald door de buikwand in de pens te prikken (Nordlund,

2003) op het moment van de dag dat de pH naar verwachting het laagst is (Alzahal, Kebreab, France, Froetschel & McBride, 2008). Dit is volgens Duffield et al. (2004) de beste manier om pensstalen te nemen in niet-experimentele omstandigheden. Duffield et al. (2004) noteerden bij een derde van de dieren het ontstaan van een of twee kleine zwellingen op de plaats van de rumenocentesis, maar ze hadden hier op korte en lange termijn geen last van. Morgante, Stelletta, Berzaghi, Giancesella & Andrighetto (2007) stelden geen negatieve gevolgen van deze techniek vast bij de 120 geteste dieren. De melkproductie bleef eveneens op peil. Enkel onmiddellijk na de ingreep ondervindt het dier hinder van de ingreep (Giancesella et al., 2010). Andere voordelen van de methode zijn snelle diagnose en lage kosten (Tajik, Nadalian, Raoofifi, Mohammadi & Bahonar, 2011). Een andere methode die bruikbaar is om pensstalen te nemen in niet-experimentele omstandigheden is via een orale sonde (Duffield et al., 2004).

AlZahal et al. (2008) onderzochten of er een relatie is tussen de pens-pH en de penstemperatuur, met als doel het ontwikkelen van een niet-invasieve methode om SARA vast te stellen. De onderzoekers stelden vast dat er tussen penstemperatuur en pens-pH een omgekeerd evenredig verband bestaat in het temperatuurgebied tussen 39 en 41 °C, zijnde: $pH = (16,9 \pm 2,04) + (-0,29 \pm 0,052) \cdot \text{Temperatuur}$ met $R^2 = 0,77$; $n = 22$, $P = 0,002$. Dit temperatuurgebied komt overeen met het pH-gebied tussen 5 en 5,6. Aan de hand van dit verband konden Alzahal et al. (2008) de minimum pens-pH voorspellen. AlZahal et al. (2008) wijzen er wel op dat een lage temperatuur niet altijd samenhangt met een hoge pH. Drinken en eten kunnen de penstemperatuur immers beïnvloeden.

Er heerst onenigheid over de exacte drempelwaarde om van SARA te kunnen spreken. Cooper et al. (1999) hanteren een pens-pH van 5,6 als bovengrens voor SARA en stellen dat de grootte van de daling onder deze pH samen met de duur van deze lage pH een aanduiding zijn voor de ernst van de pensverzuring. Beauchemin, Yang & Rode (2003) zien een pH van 5,8 gedurende enkele uren als bovengrens. Andere studies wijzen uit dat er pas een juiste diagnose gesteld kan worden na waarnemen van een lage pens-pH gedurende enkele uren en dat drie tot vijf opeenvolgende dagen (Zebeli et al., 2008; Plaizier et al., 2009).

1.3.2.1.2 Acute pensverzuring

1.3.2.1.2.1 *Symptomen*

Klauwbevangingheid, polioencephalomalacia en leverabcessen zijn voorbeelden van aandoeningen die vaak met acute pensverzuring gerelateerd worden (Owens et al., 1998). Krause & Oetzel (2006) sommen anorexia, pijn in de onderbuik, een verhoogde hartslag, een jachtige ademhaling, diarree, gebrek aan levenslust en uiteindelijk mogelijks sterfte op als klinische symptomen van acute pensverzuring. Volgens Huber (1976) zijn ook verlaagde pensactiviteit, uitdroging en systemische acidose gevolgen van lactaataccumulatie in de pens. Bij acute lactaatacidose kunnen ook cardiovasculair falen of ademhalingsproblemen optreden (Huber, 1976). Klauwbevangingheid is een verzamelbegrip voor een reeks klauwaandoeningen bij rundvee: subklinische, acute, subacute en chronische klauwbevangingheid of laminitis (Van Amstel, 2008). Polioencephalomalacia is een

neurologische aandoening, waarbij de cerebrale cortex afsterft. Zonder behandeling sterft het dier na enkele dagen (Fecteau & George, 2008).

1.3.2.1.2.2 *Risicofactoren*

Acute pensverzuring of acidose ontstaat door een plots teveel aan snel fermenteerbare koolhydraten zoals suikers en zetmeel in het rantsoen. Dit komt voor bij een te bruske verandering van het voederpatroon of rantsoensamenstelling van veel vezelrijk materiaal naar veel geconcentreerder krachtvoer. Door die plotse omschakeling stapelen onder andere lactaat en glucose zich op in de pens (Nagaraja & Titgemeyer, 2007; Beauchemin & Penner, 2009; Owens et al., 1998). Lactaat is een tienmaal sterker zuur dan de andere vluchtige vetzuren (volatile fatty acid, VFA). Daardoor is lactaat minder geprotoneerd dan de VFA's en daalt de absorptie ervan. Bijgevolg stapelt lactaat zich op in de pens en verlaagt de pH nog sterker (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

De verhoogde concentratie van zuren en glucose kunnen de penswand of de wanden van andere verteringsorganen beschadigen, de bloed-pH doen dalen en een dehydratie in de hand werken door de toegenomen osmolaliteit. Door de hogere osmolaliteit wordt de absorptie van VFA's uit de pens verhinderd en zakt de pH verder (Owens et al., 1998). Bij hoge glucoseconcentratie zijn pensorganismen zoals *Streptococcus bovis*, die glucose als groeisubstraat gebruiken, plots sterk in het voordeel. Deze en andere lactaatproducenten zorgen voor de accumulatie van lactaat in de pens (Owens et al., 1998).

Vaak blijft het, zelfs na herstel van acute pensverzuring, moeilijk de runderen weer op gewicht te krijgen en te houden. Dit is onder andere te wijten aan vertraagde nutriëntenabsorptie door schade aan het verteringsstelsel (Owens et al., 1998; Beauchemin & Penner, 2009). Veelal is behandeling van acute pensverzuring nodig om de aandoening te verhelpen en geen andere aandoeningen of zelfs de dood in de hand te werken (Owens et al., 1998).

1.3.2.1.2.3 *Diagnose*

Beauchemin & Penner (2009) spreken van acute pensverzuring als de pens-pH langer dan 24 uur onder 4,8 blijft. Lean et al. (2013) spreken van acute pensverzuring als de pens-pH lager dan 5 is en het pensvocht melkwit is en een onaangenaam zoete geur heeft. Als overmatige graanconsumptie de oorzaak van de pensverzuring is, bevat het pensvocht graankorrels. Klinische symptomen treden in dat geval op tussen 12 en 36 uur na de graanconsumptie (Kersting et al., 2008).

Acute pensverzuring kan vastgesteld worden door klinisch onderzoek in combinatie met bestuderen van de recente voederopname (Kersting et al., 2008; Lean et al., 2013). Bij het fysieke onderzoek van het dier, wordt op de aanwezigheid van de symptomen gecontroleerd (1.3.2.1.2.1 Symptomen). Recente consumptie van grote hoeveelheden suikers of gemakkelijk verteerbaar zetmeel kunnen wijzen op acute pensverzuring (Lean et al., 2013). Met grote hoeveelheden bedoelen de auteurs hoeveelheden waaraan het dier niet is aangepast.

Lean et al. (2013) stellen dat acute pensverzuring pas met zekerheid na het controleren van het dier, de voederopname en de pens-pH kan worden vastgesteld.

1.3.2.2 Behandeling

Dieren met minder ernstige pensverzuring kunnen herstellen zonder behandeling. In ernstige gevallen herstellen de dieren zelfs na een intensieve behandeling niet altijd volledig (Kersting et al., 2008).

Een mogelijke behandeling bestaat uit het oraal toedienen van buffers. Buffers zoals magnesiumcarbonaat en magnesiumhydroxide worden in water opgelost en via een maagsonde toegediend. Natriumcarbonaat is geen geschikte buffer om in opgeloste vorm toe te passen, omwille van de mogelijke zwelling van de pens door vrijkomst van CO₂. Indien het dier gedehydrateerd was, moet de elektrolytbalans gecorrigeerd worden. Dit kan door intraveneuze toediening van een elektrolyt- of natriumcarbonaatoplossing. Daarnaast is de voorziening van water ook belangrijk (Kersting et al., 2008).

1.3.2.3 Preventie

Het rantsoen is een belangrijke factor in het voorkomen van SARA en acute pensverzuring (1.3.2.1.1.2 & 1.3.2.1.2.2, Risicofactoren). Voldoende structuur en geleidelijke overgang van bij aanpassing van het rantsoen, behandelen van het graan zodat zetmeel moeilijker beschikbaar wordt voor pensmicro-organismen en beperkte hoeveelheden krachtvoer voederen, verminderen het voorkomen van pensverzuring (Owens et al., 1998; Meissner et al., 2010). Deze maatregelen verminderen eveneens de productie van de koeien en resulteren zo in minder winst voor de melkveehouder (Owens et al., 1998; Meissner et al., 2010).

Verder kunnen verschillende additieven helpen de penswerking te stabiliseren. Buffers toevoegen helpt om de pens-pH op peil te houden, maar neemt de oorzaak van de pensverzuring niet weg (Krause & Oetzel, 2006). Natriumbicarbonaat is de meest gebruikte buffer in de melkveehouderij (Hu & Murphy, 2005; Lean et al., 2014). De dissociatieconstante van natriumbicarbonaat ($pK_a = 6,25$) benadert de pens-pH goed. Daarnaast beschikt natriumbicarbonaat over een goede zuurneutraliserende capaciteit (Erdman, 1988; Russel & Chow, 1993).

Toevoegen van stoffen die de groei van lactaatconsumerende micro-organismen stimuleren of de groei van lactaatproducenten remmen, helpen lactaataccumulatie tegen te gaan (Krause & Oetzel, 2006). Bepaalde antibiotica zoals virginiamycine of ionoforen remmen de groei van lactaatproducerende bacteriën.

Een andere manier is toevoeging van micro-organismen aan het voer, zogenaamde probiotica of "*direct-fed microbials*" (Owens et al., 1998; Meissner et al., 2010). Dit zijn onder andere organismen die lactaat verbruiken zoals *Megasphaera elsdenii* en *Selenomonas ruminantium*. Meissner et al.

(2010) vermoeden uit resultaten van Counotte, Prins, Janssen & Debie (1981) dat *M. elsdenii* interessanter zou zijn omdat deze bacterie *in vitro* 60% tot 95% van het aanwezige lactaat verbruikte. De schimmel *Aspergillus oryzae* en de gist *Saccharomyces cerevisiae* zijn bekend als probiotica, maar de effectiviteit van beiden is onzeker (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008; Chiquette, 2009). Veel van deze voederadditieven zijn echter duur en vertonen niet altijd een voldoende werking om SARA te voorkomen (Meissner et al., 2010).

2 MATERIAAL EN METHODE

2.1 Doel

Het doel van het onderzoek is nagaan of, en in welke mate, een dagelijkse dosering van 250 g Bicar® Z (natriumbicarbonaat) subacute pensverzuring kan voorkomen en of de dosis de melkproductie kan verhogen.

2.1.1 Onderzoeksvragen

Heeft het dagelijks toedienen van 250 g Bicar® Z (natriumbicarbonaat) een effect op

- ✓ de melkproductie? Zoja, welke melkparameters?
- ✓ het verloop van de pens-pH?
- ✓ het verloop van de lichaamsconditie?

2.2 Proefopzet

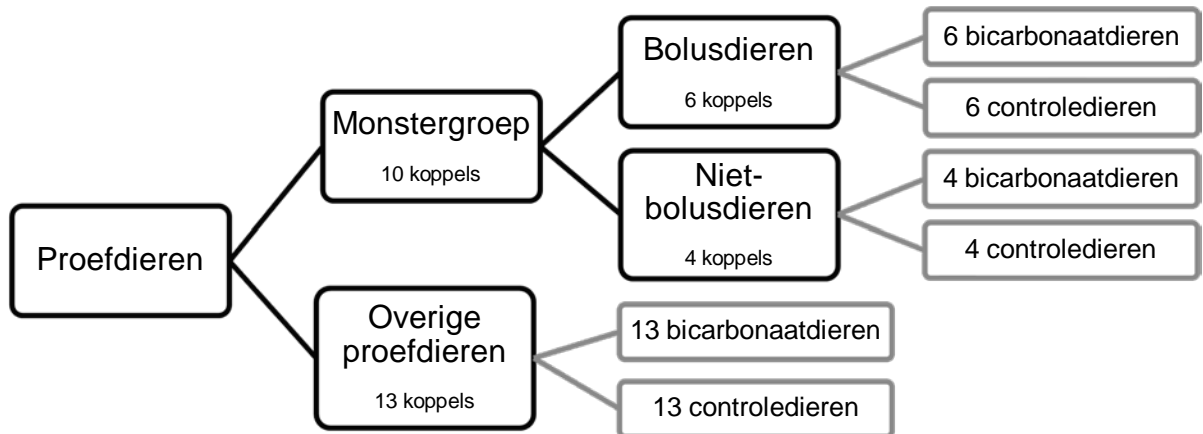
2.2.1 Dieren

Er werden 46 dieren geselecteerd voor deelname aan het onderzoek. Dit aantal is vergelijkbaar met het aantal bestudeerde dieren in gelijkaardige onderzoeken (Thomas, Emery, Breaux & Liesman, 1984; Solorzano, Armentano, Grummer & Dentine, 1989; Clayton, Lean, Rowe & Cox, 1999; Paton, Beauchemin, Veira & von Keyserlingk, 2006; Krause, Dhuyvetter & Oetzel, 2009; Correa et al., 2014). De selectie gebeurde op basis van lactatienummer en -dagen bij aanvang van de proef. Op dat moment waren de geselecteerde dieren tussen -4 en 168 dagen in lactatie. De lactatienummers varieerden tussen 1 en 7.

De geselecteerde dieren werden per twee gekoppeld. Binnen de koppels werd gestreefd naar een zo groot mogelijke overeenkomst in lactatienummer en dagen in lactatie. Indien verder de term "koppel" wordt gebruikt, worden de dieren die per twee geselecteerd werden bedoeld. Van elk koppel werd een dier aan de bicarbonaatbehandeling onderworpen (zie verder). Het andere diende als controle.

De proefdieren werden opgedeeld in kleinere groepen voor specifieke opvolging (Figuur 2.1). Zes van de 23 koppels onderzoeksdieren werden op basis van lactatiedagen gekozen voor uitgebreide opvolging. De dieren van deze zes koppels, de bolusdieren, kregen op dag 1 elk een bolus ingebracht die de pens-pH en -temperatuur registreert. Op de eerste proefdag bevonden de bolusdieren zich gemiddeld op 30,9 ($\pm 4,8$) dagen in lactatie. Er werd gekozen voor dieren vroeg in de lactatie omdat deze dieren grotere kans hebben op het ontwikkelen van SARA (Fairfield et al., 2007; Oetzel, 2007). Daarnaast werden nog vier koppels geselecteerd die op basis van

lactatiedagen het kortst op de bolusgroep volgden. Deze dieren waren gemiddeld $58,3 (\pm 8,2)$ dagen in lactatie en worden de niet-bolusdieren genoemd. Deze volledige groep, bestaande uit tien koppels, werd de monstergroep genoemd.



Figuur 2.1 Opdeling van de proefdieren in diergroepen.

2.2.2 Experiment

2.2.2.1 Verloop

De eerste twee weken van de proef, de prebicarbonaatperiode, dienden als controle: zowel de dieren uit de controlegroep als de bicarbonaatgroep kregen geen bicarbonaatsupplementatie. De duur van deze periode is gebaseerd op toegepaste aanpassingsperiodes van rantsoenwijzigingen en toevoegingen van additieven in vergelijkbare studies (Thomas et al., 1984; Solorzano et al., 1989; Clayton et al., 1999; Paton et al., 2006; Krause et al., 2009; Correa et al., 2014). De 39 daaropvolgende dagen, van dag 15 tot dag 54, werden de bicarbonaatdieren behandeld. Deze periode werd gedefinieerd als de bicarbonaatperiode. Na stopzetting van de behandeling werden de dieren nog 22 dagen opgevolgd gedurende de postbicarbonaatperiode.

2.2.2.2 Huisvesting en rantsoen

De proef vond plaats op het proefbedrijf van het Proef- en Vormingscentrum voor de Landbouw te Bocholt. Op het proefbedrijf bevonden alle dieren die werden gemolken, al dan niet voor het onderzoek geselecteerd, zich in dezelfde stal. Zo werden alle dieren op dezelfde manier behandeld. Het rantsoen bestond uit ruwvoer en water *ad libitum* en een gedoseerde portie krachtvoer. Het ruwvoer werd dagelijks om 11u00 verstrekt. De rantsoensamenstelling voor de periode van dag 1 tot dag 32 is weergegeven in Tabel 2.1. Op dag 33 werd er overgeschakeld naar een andere grassnede, dus werd de rantsoensamenstelling aangepast. In Tabel 2.2 is de rantsoensamenstelling voor de periode van dag 33 tot het einde van de proef terug te vinden.

Tabel 2.3 geeft de rantsoenkenmerken van het basisrantsoen weer. Het rantsoen wordt op het proefbedrijf samengesteld met hulp van een adviseur van AVEVE.

Tabel 2.1 Rantsoensamenstelling tot dag 32

Stalrantsoen (kg)	kg	kg DS	VEM	DVA	PEB	RE	PAS	RC
	Product							
14MK mais 2014 staal 2	23,0	9,2	9167	540	-365	756	4838	1654
14VDK 4e snede	17,4	4,5	3800	237	587	1149	2182	1055
15VDK 1e snede 2015	1,1	0,5	450	37	35	105	263	147
Tarwestro	0,5	0,4	213	-2	-8	18	145	176
Bietenperspulp	8,00	2,16	2197	186	-93	207	1404	436
Evenwichtig krachtvoer: 80% soja, 20% koolzaad	1,4	1,23	1369	369	152	584	696	102
Triticale	0,75	0,65	736	70	-36	77	522	16
Acidomix	0,150	0,135	11	0	0	5	0	48
Optimin premium	0,050	0,048	16	1	0	2	4	5
Totaal	52,30	18,89	17958	1438	273	2902	10053	3640

Tabel 2.2 Rantsoensamenstelling vanaf dag 33

Stalrantsoen (kg)	kg	kg DS	VEM	DVA	PEB	RE	PAS	RC
	Product							
14MK mais 2014 staal 2	23,0	9,2	9167	540	-365	756	4838	1654
15VDK 1e snede 2015	9,5	4,5	4053	331	318	942	2367	1325
Tarwestro	0,3	0,3	128	-1	-5	11	87	106
Bietenperspulp	10,00	2,70	2746	232	-116	259	1755	545
Evenwichtig krachtvoer: 80% soja, 20% koolzaad	2,75	2,42	2711	542	464	1113	1345	201
Optimin premium	0,100	0,096	32	2	1	4	7	10
52 Optimum start	0,10	0,09	96	12	4	20	51	9
Totaal	45,80	18,38	18932	1658	301	3105	10451	3850

Tabel 2.3 Kenmerken van het basisrantsoen. * Index om het risico op pensverzuring in te schatten; ** Index om de verteringssnelheid in te schatten

Component	Hoeveelheid
Drogestofgehalte	36 %
VEM	951/ kg DS
Glucogene nutriënten (GLUCO)	455 g/kg DS
Ruw eiwit (RE)	154 g/kg DS
Darmverteerbare aminozuren (DVA)	76 g/kg DS
Pens eiwit balans (PEB)	259 g/kg DS
Pensafbreekbare stoffen (PAS)	532 g/kg DS
Pensafbreekbaar eiwit in de snelle fractie (PAE⁻¹)	59 g/kg DS
Pensafbreekbaar eiwit (PAE)	97 g/kg DS
Pensafbreekbare koolhydraten in de snelle fractie (PAK⁻¹)	114 g/kg DS
Pensafbreekbare koolhydraten (PAK)	421 g/kg DS
PAE⁻¹/ PAK⁻¹	0,52
PAE/PAK	0,23
Drogestofgehalte ruwvoeder (DS Rv)	13,9 kg
Drogestofopname	17,9 kg
Structuurwaarde Aveve (SWA)	196 /kg DS
Suiker	21 g/kg DS
Snel afbreekbare zetmelen (SUSAZ)	86 g/kg DS
Zetmeel	217 g/kg DS
Bestendig zetmeel (BZET)	55 g/kg DS
SARA*	63
VSN**	96
Ruwe celstof (RC)	193 g/kg DS
Totale celwanden (NDF)	391 g/kg DS

De samenstelling van het krachtvoerschema verschilt niet tussen de bicarbonaatgroep en de controlegroep op de bicarbonaatgift na. Het krachtvoer voor beide groepen bestaat uit evenwichtig krachtvoer en eiwitkern. Het krachtvoer voor de bicarbonaaddieren wordt gesupplementeerd met bicarbonaatkorrel (Tabel 2.6). Deze bicarbonaatkorrel bevat een gedeelte van de eiwitkern. De portie eiwitkern, bestaande uit sojaschroot en koolzaadschroot, van het krachtvoer is dus voor beide behandelingsgroepen hetzelfde.

Tabel 2.4 Krachtvoerschema multipare koeien. (*) Het krachtvoerschema van de dieren uit de bicarbonaatgroep werd enkel tijdens de bicarbonaatperiode verschaft (dag 15 tot dag 54). In de pre- en postbicarbonaatperiode (dag tot dag en dag tot dag) volgen de dieren uit de bicarbonaatgroep eveneens het krachtvoerschema van de controlegroep.

Cyclus- dag	Melkgift	Evenwichtig krachtvoer	Eiwitkern		Propyleen	Bicarbonaatkorrel	
			Bicarbonaat- groep (*)	Controle- groep		Bicarbonaat- groep (*)	Controle- groep
- 50	/	0,50	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
- 5	/	1,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
0	/	2,00	0,25	1,00	2,00	1,00	0,00
14	/	5,50	0,25	1,00	2,00	1,00	0,00
21	/	7,00	0,25	1,00	1,00	1,00	0,00
28	/	7,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
79	/	7,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
80+	5,0	0,50	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	27,0	0,50	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	29,0	1,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	31,0	2,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	35,0	4,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	39,0	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	41,0	7,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	42,0	7,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	44,0	7,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00

Tabel 2.5 Krachtvoerschema eerstekalfskoeien. (*) Het krachtvoerschema van de dieren uit de bicarbonaatgroep werd enkel tijdens de bicarbonaatperiode verschaft (dag 15 tot dag 54). In de pre- en postbicarbonaatperiode (dag 1 tot dag 14 en dag 55 tot dag 77) volgen de dieren uit de bicarbonaatgroep eveneens het krachtvoerschema van de controlegroep.

Cyclus- dag	Melkgift	Evenwichtig krachtvoer	Eiwitkern		Propyleen	Bicarbonaatkorrel	
			Bicarbonaat- groep (*)	Controle- groep		Bicarbonaat- groep (*)	Controle- groep
- 50	/	1,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
- 5	/	1,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
0	/	2,00	0,25	1,00	2,00	1,00	0,00
14	/	5,00	0,25	1,00	2,00	1,00	0,00
21	/	6,00	0,25	1,00	1,00	1,00	0,00
28	/	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
70	/	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
99	/	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
100+	5,0	0,50	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	24,0	1,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	26,0	2,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	28,0	3,30	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	30,0	4,80	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	34,0	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	36,0	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00
	38,0	6,00	0,25	1,00	0,00	1,00	0,00

2.2.3 Bicarbonaatverstrekking

De dieren van de bicarbonaatgroep kregen bicarbonaatkorrel in het krachtvoer aangeboden. De bicarbonaatkorrel bevat 250 g natriumbicarbonaat per kg. Tijdens de bicarbonaatperiode werd dagelijks 1,00 kg bicarbonaatkorrel in de melkrobot aangeboden. Tabel 2.6 geeft de samenstelling van de bicarbonaatkorrel weer. Oorspronkelijk werd aan de leverancier gevraagd de smaakstof aan 1 g per kg korrel toe te voegen, maar bij terugkoppeling met de leverancier bleek dat de dosering slechts 0,02 g/kg was.

Tabel 2.6 Samenstelling bicarbonaatkorrel

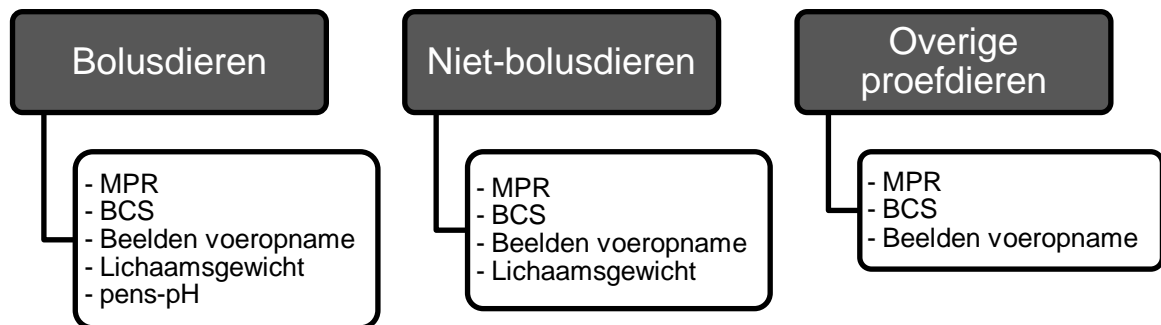
Component	Hoeveelheid (per kg korrel)
Sojaschroot	0,599 kg
Koolzaadschroot	0,150 kg
Bicar® Z	0,250 kg
Smaakstof: Aroma Fruity	0,02 g

2.2.4 Onregelmatigheden

Tijdens de proef kwamen enkele onregelmatigheden voor die mogelijk een invloed hebben op de resultaten. Op dag 26 werd een bolusdier uit de bicarbonaatgroep afgevoerd omwille van ernstige mastitis en algemene slechte gezondheid. Op dit dier konden bijgevolg geen metingen meer worden uitgevoerd. Een bolusdier uit de controlegroep werd op dag 5 behandeld na vaststellen van koorts. Datzelfde dier kreeg op dag 6 een magneet ingebracht. Tijdens de proef werden twee dieren behandeld voor mastitis: een niet-bolusdier uit de controlegroep op dag 19 en niet-bolusdier uit de monstergroep op dag 21. Vanaf dag 52 liet de pH-meter van de pensbolus het afweten bij een bolusdier uit de bicarbonaatgroep.

2.3 Metingen en analyses

Figuur 2.2 geeft de onderzoeksacties weer die per diergroep werden uitgevoerd. Bijlage II geeft weer op welke dag welke gegevens werden verzameld.



Figuur 2.2 Overzicht onderzoekacties per diergroep

2.3.1 Pens-pH en -temperatuur

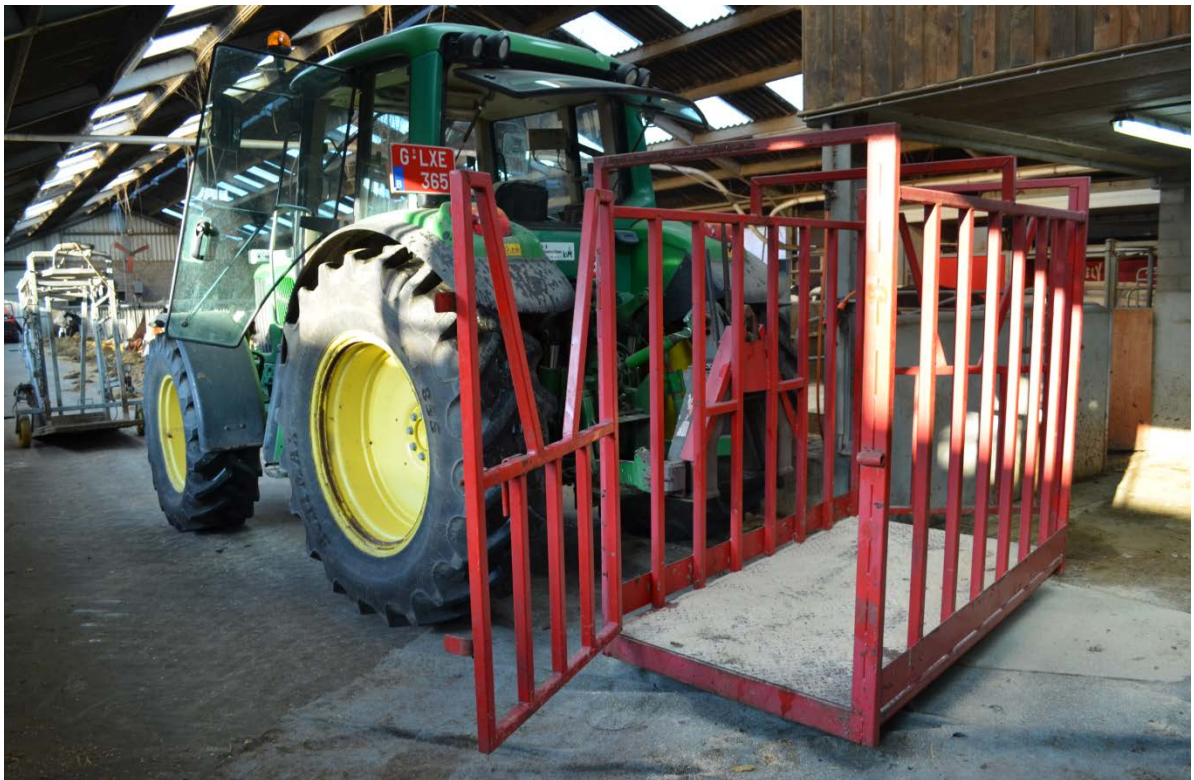
Van beide groepen kregen de zes dieren op dag 1 een pensbolus (SmaXtec pH & Temp Sensor) ingebracht. Deze bolus werd binnen het uur voor inbrengen geijkt. De bolus registreerde om de 10 minuten de pens-pH en -temperatuur en verstuurde deze gegevens draadloos door naar het basisstation. Het meetbereik loopt van pH 3 tot 9. De resolutie van pH-metingen bedraagt 0,01 pH-eenheden en was tot 90 dagen na kalibratie tot op $\pm 0,2$ eenheden nauwkeurig. Tot dag 150 bedraagt de nauwkeurigheid $\pm 0,4$ pH-eenheden. De resolutie van de temperatuurmetingen is $0,01^{\circ}\text{C}$ en de metingen zijn op $\pm 0,25^{\circ}\text{C}$ nauwkeurig. De temperatuurgegevens werden niet gebruikt voor verdere analyse.

2.3.2 Beelden voeropname

Vanaf dag 18 tot dag 35 werden de dieren in de melkrobot gefilmd om de krachtvoeropname te kunnen inschatten. Door koppeling van de tijdnoting van de videobeelden met de gegevens van de melk- en voerbezoeken van de melkrobot, kon worden vastgesteld welke koe zich op welk moment in de robot bevond.

2.3.3 Lichaamsgewicht

De dieren uit de monstergroep werden doorheen de proefperiode driemaal gewogen: bij aanvang van de proef op dag 1, op het einde van de bicarbonaatperiode op dag 53 en als controle tijdens de post-bicarbonaatperiode op dag 71. Hiervoor werden de dieren in de weegkooi geleid (Figuur 2.3). De weegkooi werd op het weegsysteem van de voerbak gemonteerd. Het lichaamsgewicht van het dier was af te lezen op een monitor in de trekker. Dit systeem weegt op 5 kg nauwkeurig.



Figuur 2.3 Weegkooi gemonteerd op het weegsysteem van de voerbak

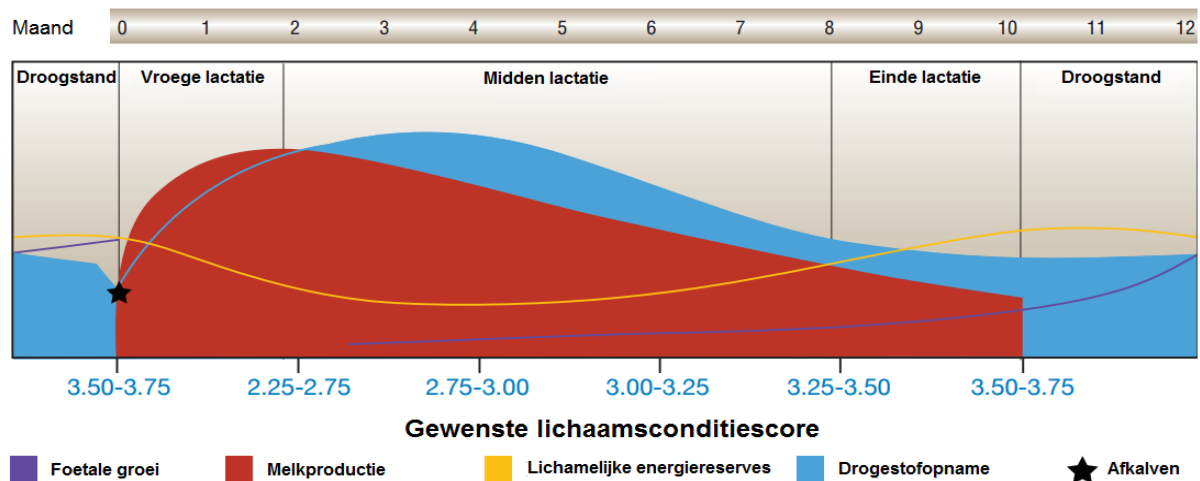
2.3.4 Lichaamsconditiescore

De lichaamsconditiescore (BCS, body condition score) werd gedurende de hele proefperiode wekelijks bepaald door dezelfde persoon. Er werd gescoord aan de hand van een vijfpuntschaal met onderverdelingen per 0,25 punten. Voor het scoren werd gesteund op de methode van Edmonson, Lean, Weaver, Farver & Webster (1989; bijlage III) en de beslissingsboom (bijlage IV)

van Pennsylvania State University (2004), gebaseerd op de methode van Elanco Animal Health (1997) en Wildman, Jones, Wagnes en Boman (1982).

Bij het scoren werden telkens foto's genomen om de evolutie van het dier te documenteren en om het oordeel te kunnen herbekijken bij twijfel.

De BCS neemt af tot 90 dagen na afkalven (Sumner & McNamara, 2007). Rond dag 270 na afkalven herstelde het verlies in BCS zich tot op het niveau van 30 dagen voor afkalven. Het idee over de ideale marge waarbinnen een dier zich in een bepaalde productiefase dient te bevinden, verschilt tussen verschillende bronnen (Elanco Animal Health, 1997; Roche et al., 2009). Aangezien voor de bepaling van de BCS werd gesteund op de technieken van onder andere Elanco Animal Health (1997), werden de marges die door deze auteurs werden voorgesteld gebruikt als leidraad.



Figuur 2.4 Gewenste lichaamsconditiescore doorheen de lactatie, overgenomen van Elanco Animal Health (1997). Voor vergrootte afbeelding, zie bijlage V.

Volgens Elanco Animal Health (1997) is een ideale score bij afkalven 3,50 à 3,75. Tijdens pieklactatie bedraagt de BCS van een koe in goede toestand 2,25 tot 2,75 en rond de midlactatieperiode is een BCS van 2,75 tot 3,00 gewenst. Op het einde van de lactatie is een score tussen 3,00 en 3,25 goed, en bij aanvang van de droogstand mag de BCS 3,50 à 3,75 bedragen (Elanco Animal Health, 1997; Figuur 2.4).

2.3.5 Meststalen

Er werden viermaal meststalen genomen. Staalnames op dag 8 en dag 71 dienden als controle voor respectievelijk pre-bicarbonaatperiode en post-bicarbonaatperiode. Op dag 36 en dag 52 dienden de stalen als referentie voor de bicarbonaatperiode.

De stalen werden bewaard in de diepvriezer (-21°C) tot analyse. De analyse bestond uit de bepaling van het drogestofgehalte, een pH-meting en het drogestofgehalte van onverteerde voedselpartikels na zeping. Deze metingen werden niet op het hele staal uitgevoerd, maar er werd op willekeurige

plekken in het staal mest genomen om zo een deelstaal samen te stellen. Van elk meststaal werd het drogestofgehalte en de pH in eerste instantie vijfmaal per staal bepaald. Na evaluatie van de resultaten werd besloten om met een tweevoudige bepaling verder te gaan, aangezien de resultaten zeer homogeen waren.

Het drogestofgehalte werd bepaald door ongeveer 20 gram staal minstens 24 uur op 105°C in de droogstoof te stoppen. Na constant gewicht (maximum 0,01 g verschil) bij twee opeenvolgende metingen met telkens een droogperiode van minstens 2 uur tussen, werd aangenomen dat al het vocht uit het staal verdampt was.

Na bepaling van het drogestofgehalte, werd aan elk deelstaal 25,0 ml gedemineraliseerd water toegevoegd. Na minstens 30 minuten schudden werd de pH bepaald met een pH-meter (WTW pH 315i).

Voor de bepaling van het vezelgehalte werd ongeveer 80 g natte mest in een zeef (gemiddelde maasgrootte 1,30 x 1,47 mm) gebracht. De mest werd met water gespoeld tot het spoelwater helder van kleur was (Hulsen & Aerden, 2013). De resterende mestpartikels werden in een recipiënt overgebracht en minstens 24 uur op 105°C gedroogd. Na de droogperiode werd het drogestofgehalte bepaald zoals hierboven beschreven. Voor de berekening van het droog vezelgehalte werd aangenomen dat het drogestofgehalte van het te zeven deelstaal gelijk was aan het gemiddelde drogestofgehalte van het staal. Het droog vezelgehalte werd bekomen door toepassen van Vergelijking 2.1.

Vergelijking 2.1 Formule die gebruikt werd om het droog vezelgehalte te berekenen

$$\text{Droog vezelgehalte} = \frac{\text{massa (gedroogd, na zeven)}}{\text{massa(nat, voor zeven)} \cdot \text{drogestofgehalte}}$$

In eerste instantie werd geprobeerd om gedroogde stalen te onderwerpen aan een natte zeving en na een droogperiode het gehalte drogestof vezels ten opzichte van drogestof van het gehele deelstaal uit te drukken. Het zeven ging echter niet vlot met de ingedroogde stalen, dus werd geopteerd om natte stalen te zeven en aan te nemen dat het te zeven deelstaal hetzelfde drogestofgehalte had als de deelstalen gebruikt voor bepaling van drogestofgehalte.

Het droog vezelgehalte geeft meer informatie over de mate van vertering. Veel lange vezels in de mest geven aan dat er mogelijk onvoldoende werd gekauwd en dat de doorstromingstijd in de pens onvoldoende lang was (Hulsen & Aerden, 2013). De doorstromingstijd kan worden verlengd door het structuurgehalte van het rantsoen te verhogen en/of door door de hoeveelheid snelle koolhydraten af te bouwen (Hulsen & Aerden, 2013).

2.3.6 Melkproductieregistratie (MPR)

Tijdens het onderzoek werd er op vier momenten een melkproductieregistratie (MPR) gedaan: op dag 1, dag 15, dag 52 en dag 76. De MPR's van dag 1 en dag 15 dienen als resultaten uit de prebicarbonaatperiode. De resultaten van de MPR op dag 52 gelden voor de bicarbonaatperiode en de MPR van dag 76 geeft de situatie in de post-bicarbonaatperiode weer. De gegevens over de dagproductie, het melkvetgehalte en de individuele standaardkoe (ISK) werden meegenomen voor statistische verwerking.

2.3.6.1 ISK

De ISK of individuele standaardkoe is een berekende waarde om de melkproductie van verschillende koeien of van verschillende momenten beter met elkaar te kunnen vergelijken. Verschillen in gezondheid, voeding, melktechniek, weersomstandigheden, genetica enzovoorts komen dan beter tot uiting (CR Delta, 2001).

De ISK wordt berekend op basis van de 24-urenproductie vanuit de MPR. Deze dagproductie wordt gecorrigeerd voor een aantal diergebonden factoren zoals leeftijd, seizoen van afkalven en aantal dagen in lactatie. De ISK is de geschatte dagproductie van een koe in kg melk op de dag van de monstername als de koe in februari of maart op volwassen leeftijd (69 - 92 maanden) gekalfd zou hebben en op het moment van monstername 50 dagen in lactatie zou zijn (CR Delta, 2001).

2.3.7 Gegevens melkrobot

Op het proefbedrijf werden de koeien gemolken in een melkrobot (Lely Astronaut). Via het gekoppelde managementprogramma, Lely T4C, werden onder meer gegevens zoals de ontvangen portie krachtvoer, de melkgift, ISK en het dagelijkse bezoekgedrag geregistreerd.

2.4 Statistische verwerking

De statistische verwerking van de gegevens gebeurde met het programma SAS 9.3, SAS University Edition en SAS Enterprise Guide 6.1.

Bij de verwerkende statistiek werd gebruik gemaakt van de procedure "Mixed model" om verschillen in diverse parameters tussen behandelingsgroepen op te sporen. Hierbij werd telkens de behandelingsgroep als variabele gebruikt en het lactatienummer als covariabele. Als randomfactor werd het koppel gekozen. Het lactatienummer werd gebruikt als covariabele om het model correcter te maken, maar werd verder niet in de analyses bestudeerd.

Bij de verwerking van de continue pH-gegevens, werd bij de mixed procedure gebruik gemaakt van meerdere covariabelen. De behandelingsgroep werd ingegeven als hoofdvariabele, het

lactatienummer, het weeknummer, de lactatiedagen en de proefperiode werden ingegeven als covariabelen. Als randomfactor werd de variabele koppel gebruikt.

Daarnaast werd er gebruik gemaakt van de procedure voor het berekenen van correlatiecoëfficiënten. Er werden correlatiecoëfficiënten berekend tussen de pens-pH enerzijds en melkgift, melkvetgehalte, mestparameters, ISK, BCS, lichaamsgewicht en bicarbonaatverstreking anderzijds. Er werd telkens per behandelingsgroep en per proefperiode naar correlatiecoëfficiënten gezocht.

Er werd ook gebruik gemaakt van de procedure voor het berekenen van regressievergelijkingen tussen de pH en overige parameters.

Resultaten werden bij alle procedures als significant beschouwd als de p-waarde kleiner dan of gelijk aan 0,05 was.

3 RESULTATEN

3.1 Beschrijvende statistiek

3.1.1 Dieren

Bij het begin van de proef waren de proefdieren gemiddeld 63,0 (\pm 46,6) dagen ver in de lactatie. In Tabel 3.1 is het gemiddeld aantal lactatiedagen per diergroep weergegeven. De onderverdeling van de volledige groep proefdieren in deelgroepen is in Figuur 2.1 weergegeven.

Tabel 3.1 Gemiddeld aantal lactatiedagen van de verschillende diergroepen

Diergroep	Lactatiedagen \pm standaardafwijking
Bolusgroep	30,9 (\pm 4,8)
Bicarbonaatgroep	30,7 (\pm 5,2)
Controlegroep	31,2 (\pm 4,9)
Niet-bolusdieren monstergroep	58,3 (\pm 8,2)
Bicarbonaatgroep	61,0 (\pm 5,0)
Controlegroep	55,5 (\pm 10,5)
Overige proefdieren	79,3 (\pm 55,6)
Bicarbonaatgroep	78,7 (\pm 57,7)
Controlegroep	79,8 (\pm 55,7)
Alle proefdieren	63,0 (\pm 46,6)
Bicarbonaatgroep	63,1 (\pm 47,5)
Controlegroep	62,9 (\pm 46,7)

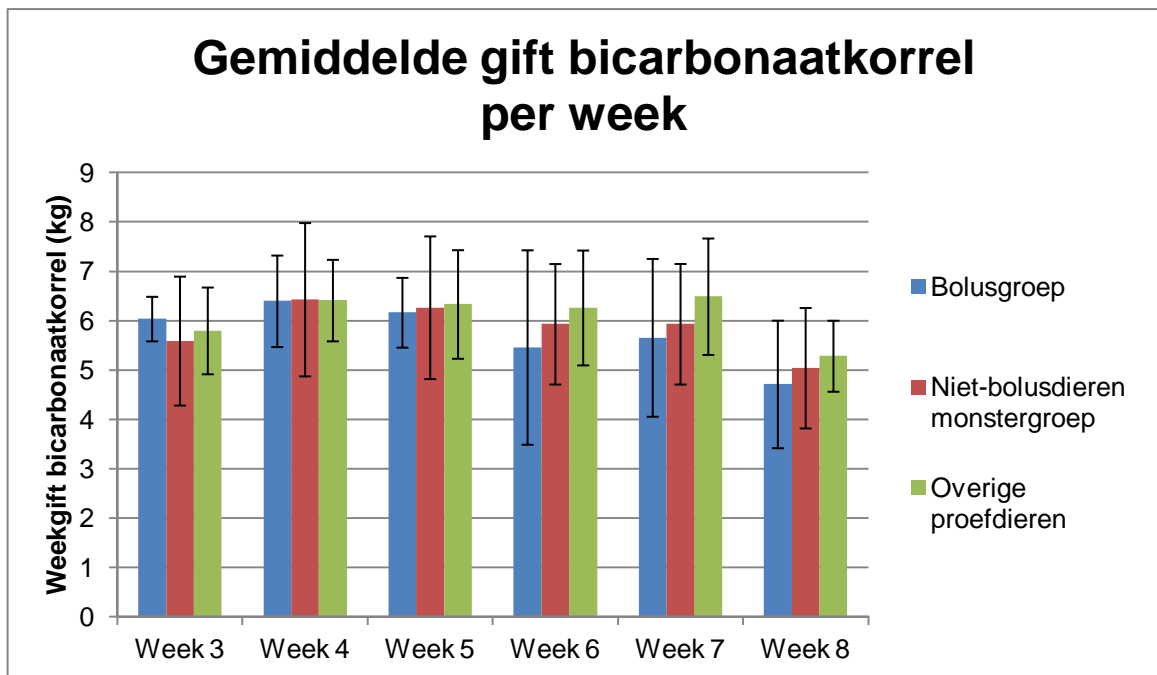
Tabel 3.2 geeft het gemiddelde lactatienummer per diergroep weer. Het gemiddelde lactatienummer van de volledige groep proefdieren was bij aanvang van de proef 2,5 (\pm 1,5).

Tabel 3.2 Gemiddeld lactatienummer per diergroep

Diergroep	Lactatienummer \pm standaardafwijking
Bolusgroep	2,67 (\pm 2,02)
Bicarbonaatgroep	2,83 (\pm 2,40)
Controlegroep	2,50 (\pm 1,76)
Niet-bolusdieren monstergroep	2,25 (\pm 1,16)
Bicarbonaatgroep	2,25 (\pm 1,26)
Controlegroep	2,25 (\pm 1,26)
Overige proefdieren	2,42 (\pm 1,30)
Bicarbonaatgroep	2,38 (\pm 1,26)
Controlegroep	2,46 (\pm 1,39)
Alle proefdieren	2,46 (\pm 1,47)
Bicarbonaatgroep	2,48 (\pm 1,56)
Controlegroep	2,43 (\pm 1,41)

3.1.2 Bicarbonaatgift

De gemiddelde gift bicarbonaatkorrel is in feite lager dan de vooropgestelde 7 kg bicarbonaatkorrel per dier per week. De gemiddelde gift bicarbonaatkorrel over behandelingsgroepen en over de



Figuur 3.1 Gemiddelde bicarbonaatkorrelgift per week per diergroep.

gehele bicarbonaatperiode bedroeg $5,97 \pm 0,91$ kg per week. Dit was per dag gemiddeld 0,85 kg bicarbonaatkorrel, en dus 0,21 kg natriumbicarbonaat in plaats van de vooropgestelde 0,25 kg. Figuur 3.1 toont de gemiddelde hoeveelheid bicarbonaatkorrel die een koe uit elke proefdiergroep per week aangeboden kreeg.

3.1.3 Voeropname

Om na te gaan of de dieren het krachtvoer goed opnamen, werd de voeropname in de melkrobot op dag 16, 28 en 29 opgevolgd. Algemeen namen de dieren uit de controlegroep het krachtvoer beter op dan de dieren uit de bicarbonaatgroep. Het kwam vaker voor dat een dier uit de bicarbonaatgroep voer liet liggen dan dat een controledier dit deed.

Op dag 16, de tweede dag van de bicarbonaatperiode, kwam er 18 keer een controledier in de melkrobot na een bicarbonaadier. Tien keer hiervan kon het controledier resten van het bicarbonaadier verorberen (55,6%). Op dag 28 gebeurde dit negen van de 26 keer (34,6%). Op dag 29 waren er slechts beelden van middernacht tot 8u44. Tijdens die periode kwam er tien keer een controledier in de robot na een bicarbonaadier. In vier gevallen kon het controledier de voerresten van het bicarbonaadier opnemen (40,0%).

3.2 Verwerkende statistiek

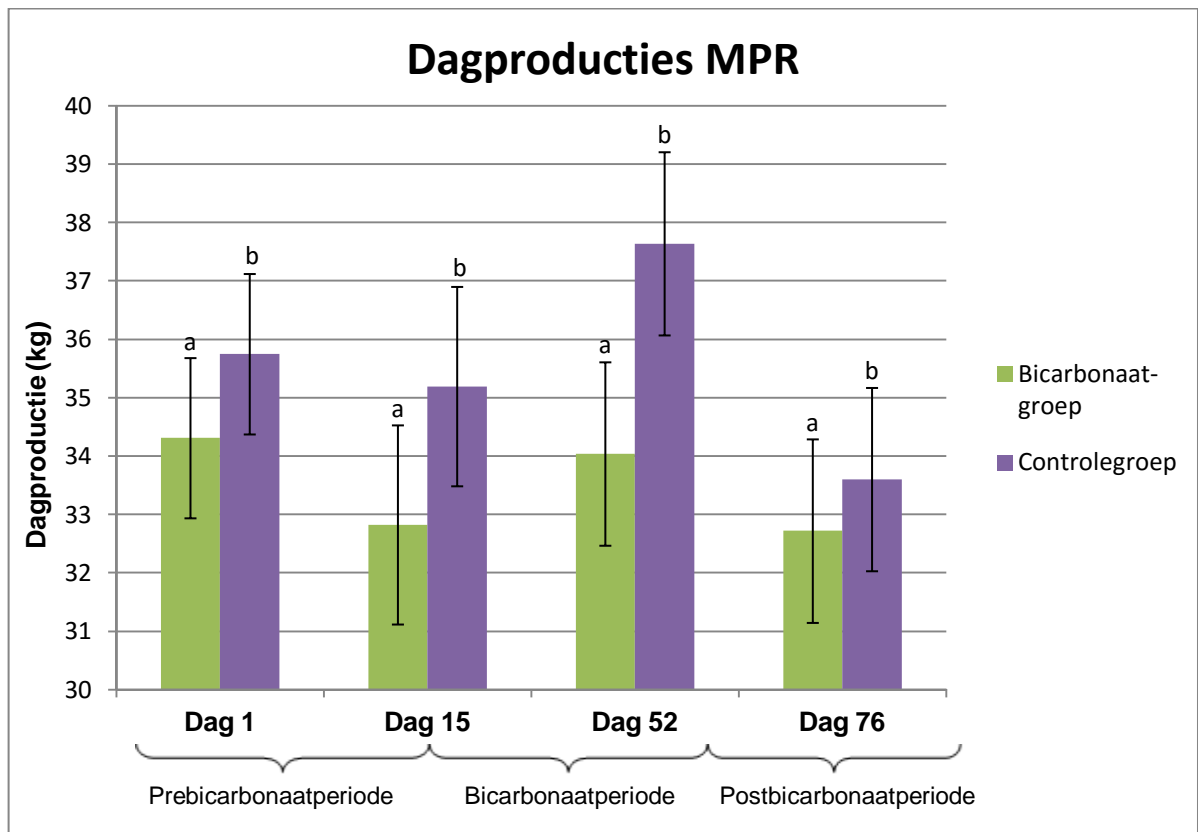
3.2.1 Melkparamaters

3.2.1.1 Dagproductie MPR

In Figuur 3.2 zijn de resultaten van de MPR weergegeven. Dag 15 is de overgangsdag tussen de prebicarbonaatperiode en de bicarbonaatperiode (Bijlage II). De bicarbonaadieren kregen in de loop van dag 15 hun eerste portie bicarbonaatkorrel verstrekt, maar vele dieren ontvingen nog niet de volledige portie van 1,00 kg. In volgende figuren is de overgangsdag tussen deze twee periodes op gelijkaardige manier weergegeven.

De resultaten van MPR tonen bij de vier staalnames (Figuur 3.2), zowel voor, tijdens als na de bicarbonaatperiode, een significante invloed van de behandelingsgroep ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0025$) op de dagproductie. De gemiddelde dagproducties van de twee behandelingsgroepen zijn in Figuur 3.2 per MPR weergegeven.

De bicarbonaadieren produceerden op dag 1 en dag 15, respectievelijk gemiddeld $34,3 (\pm 1,4)$ en $32,8 (\pm 1,7)$ kg melk. De controledieren gaven respectievelijk $35,7 (\pm 1,4)$ en $35,2 (\pm 1,7)$ kg melk. Op dag 52, op het einde van de bicarbonaatperiode, bedroeg de gemiddelde dagproductie $34,0 (\pm 1,6)$ kg bij de bicarbonaadieren en $37,6 (\pm 1,6)$ kg bij de controledieren. Tijdens de postbicarbonaatperiode bedroeg de melkproductie op dag 76 gemiddeld $32,7 (\pm 1,6)$ kg bij de bicarbonaadieren en $33,6 (\pm 1,6)$ kg bij de controledieren.



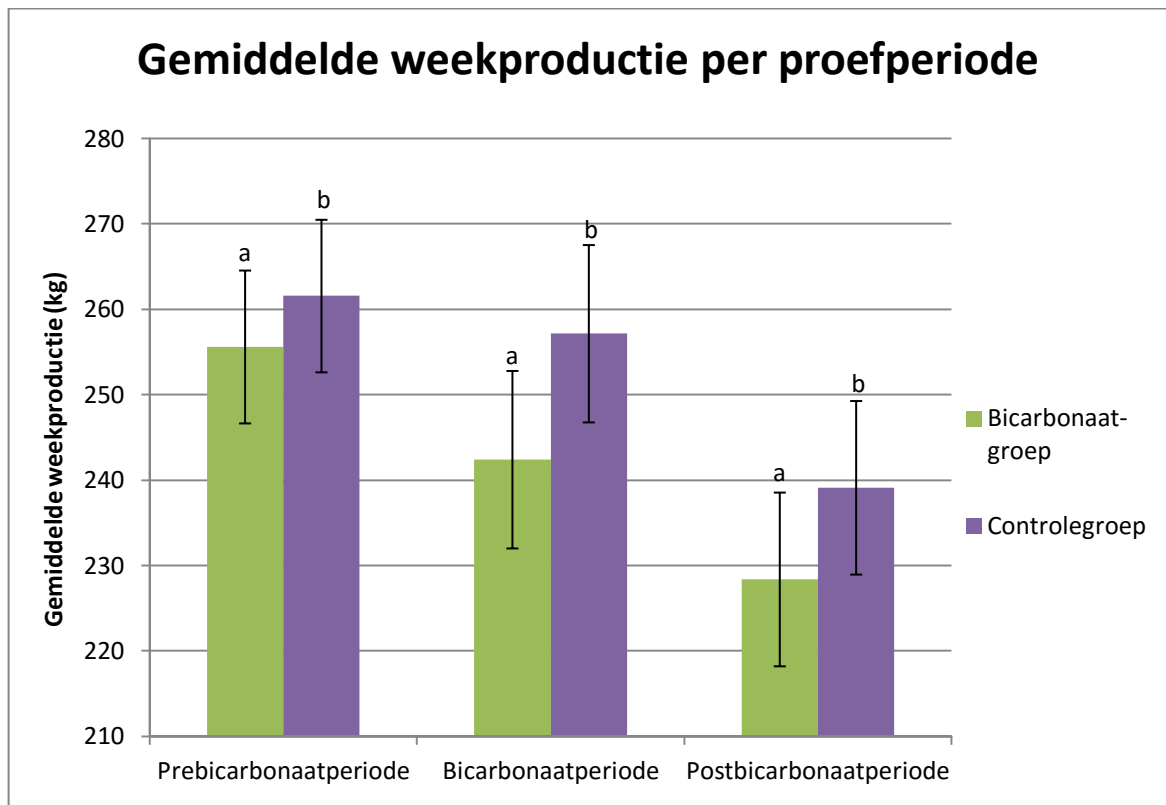
Figuur 3.2 Gemiddelde dagproducties van de MPR per behandelingsgroep. Significante verschillen ($p \leq 0,05$) tussen de behandelingsgroepen worden aangeduid met verschillende letters.

De productiever verschillen tussen de MPR's werden telkens door de behandelingsgroep ($p = 0,0066$; $p = 0,0006$; $p < 0,0001$) beïnvloed.

3.2.1.2 Weekproductie

De invloed van de behandelingsgroep op de gemiddelde weekproductie per proefperiode, was telkens significant ($p = 0,0041$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$). De gemiddelde weekproducties zijn per proefperiode en per behandelingsgroep voorgesteld in Figuur 3.3.

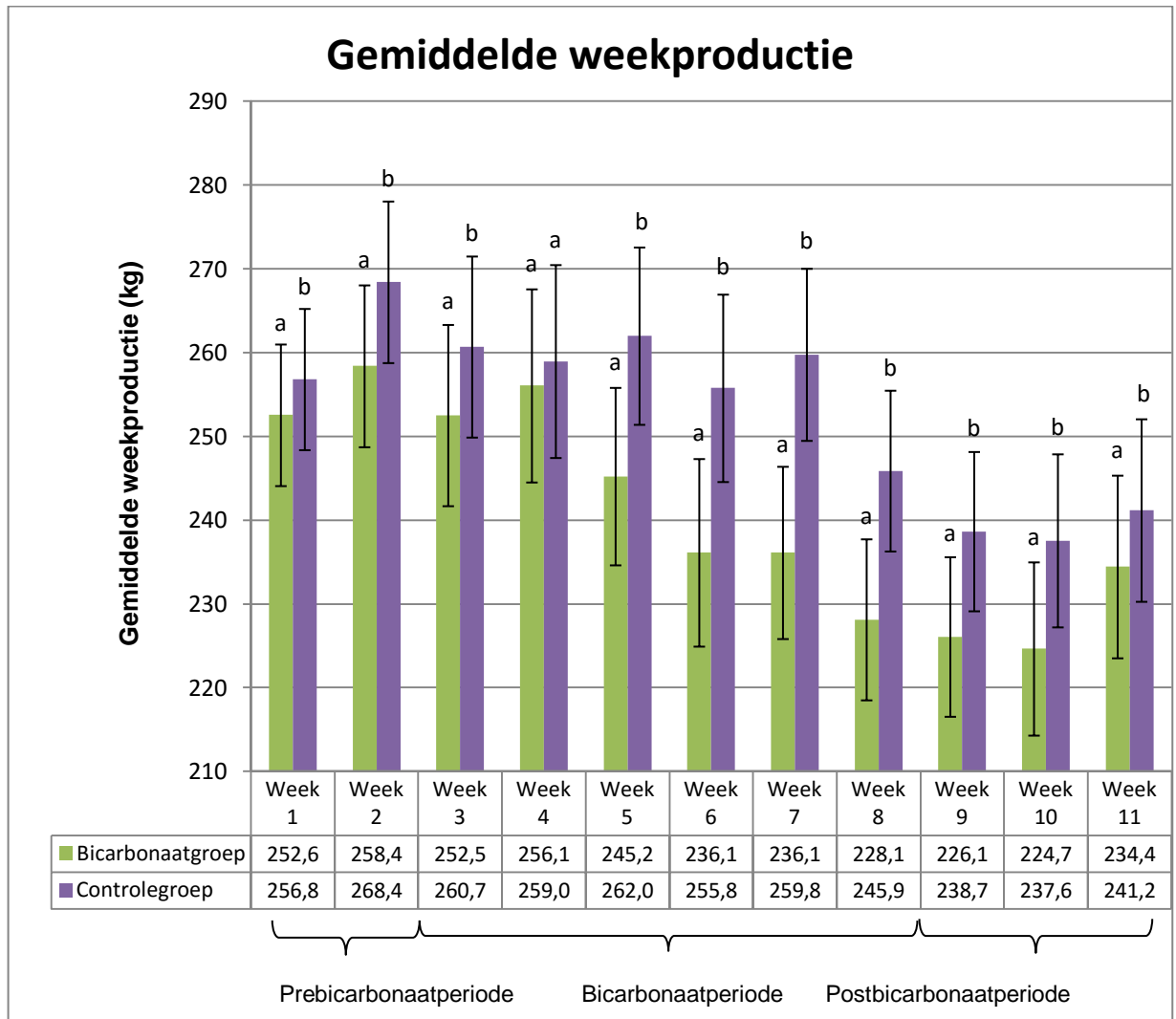
Tijdens de prebicarbonaatperiode produceerden de bicarbonaatsdieren gemiddeld $255,6 (\pm 9,0)$ kg melk per week, de controledieren $261,6 (\pm 8,9)$ kg. Tijdens de bicarbonaatperiode was de gemiddelde weekproductie bij de bicarbonaatskoeien $242,4 (\pm 10,4)$ kg melk. De controlekoeien bereikten een gemiddelde weekproductie van $257,2 (\pm 10,4)$ kg melk per week. In de postbicarbonaatperiode gaven de bicarbonaatsdieren gemiddeld $228,4 (\pm 10,2)$ kg melk per week. De controledieren gaven in dezelfde periode gemiddeld $239,1 (\pm 10,2)$ kg melk per week.



Figuur 3.3 Gemiddelde weekproducties per proefperiode en per behandelingsgroep. Significante verschillen ($p \leq 0,05$) tussen de behandelingsgroepen worden aangeduid met verschillende letters.

De evoluties tussen de proefperiodes stonden onder invloed van de behandelingsgroep ($p < 0,0001$; $p = 0,0508$).

In Figuur 3.4 zijn de gemiddelde weekproducties weergegeven per behandelingsgroep. De weekproducties verschilden, op een keer na, telkens onder invloed van de behandelingsgroep ($p \leq 0,0425$). Tijdens week 4 was er geen significante invloed van de behandelingsgroep ($p = 0,1325$).

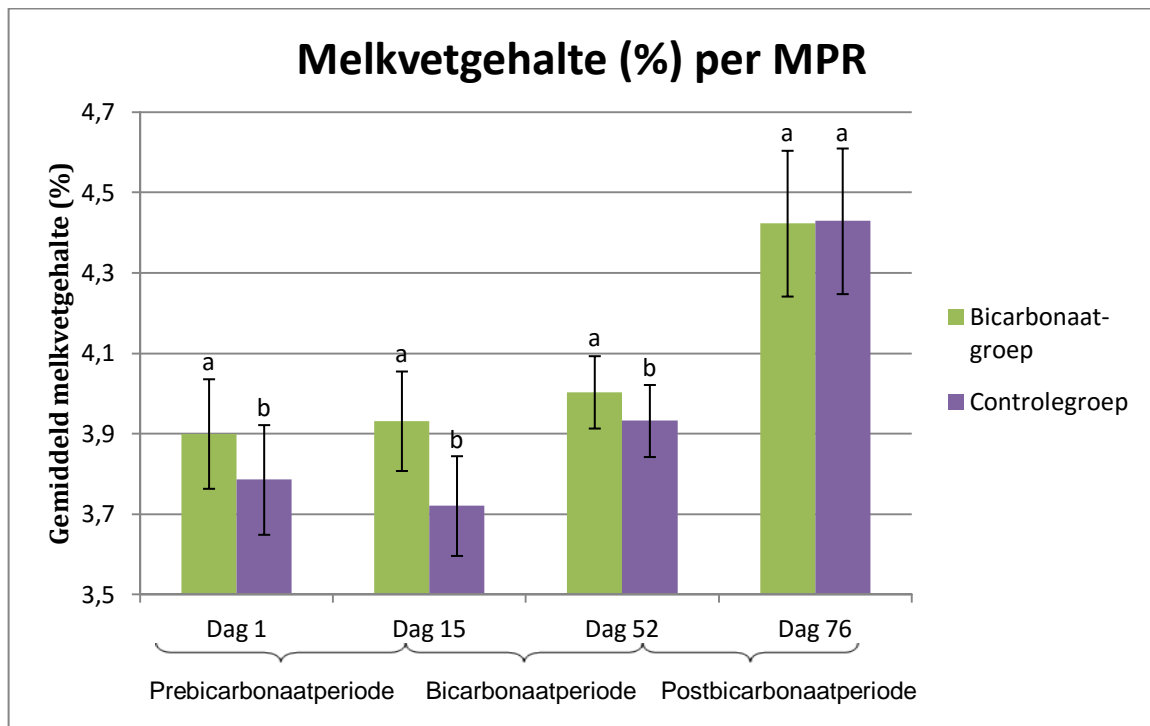


Figuur 3.4 Gemiddelde weekproductie per behandelingsgroep en per week. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

3.2.1.3 Melkvetgehalte

De melkvetgehaltenes van de eerste drie MPR's op dagen 1, 15 en 52 werden significant beïnvloed door de behandelingsgroep ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0148$). Bij de laatste MPR op dag 76 veroorzaakte de behandelingsgroep waarin het dier zich bevond geen verschil in melkvetgehalte ($p = 0,8573$). De resultaten van het melkvetgehalte per MPR zijn in Figuur 3.5 terug te vinden.

Op dag 1 lag het melkvetgehalte bij de bicarbonaatdieren op $3,90 (\pm 0,14)\%$. Het melkgehalte lag bij de controledieren gemiddeld op $3,79 (\pm 0,14)\%$. Op de dag van de tweede MPR, op het einde van de prebicarbonaatperiode, was het melkvetgehalte $3,93 (\pm 0,12)\%$ bij de bicarbonaatdieren en $(3,72 \pm 0,12)\%$ bij de controledieren. Op dag 52, op het einde van de bicarbonaatperiode, produceerden de bicarbonaatdieren melk met gemiddeld $4,00 (\pm 0,9)\%$ vetgehalte. Het melkvetgehalte bij de controledieren was $3,93 (\pm 0,09)\%$. Bij de laatste MPR, op 76 tijdens de postbicarbonaatperiode, was het melkvetgehalte bij de bicarbonaatdieren gemiddeld $4,42 (\pm 0,18)\%$ en bij de controledieren $4,43 (\pm 0,18)\%$.



Figuur 3.5 Gemiddeld melkvetgehalte per behandelingsgroep en per MPR. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

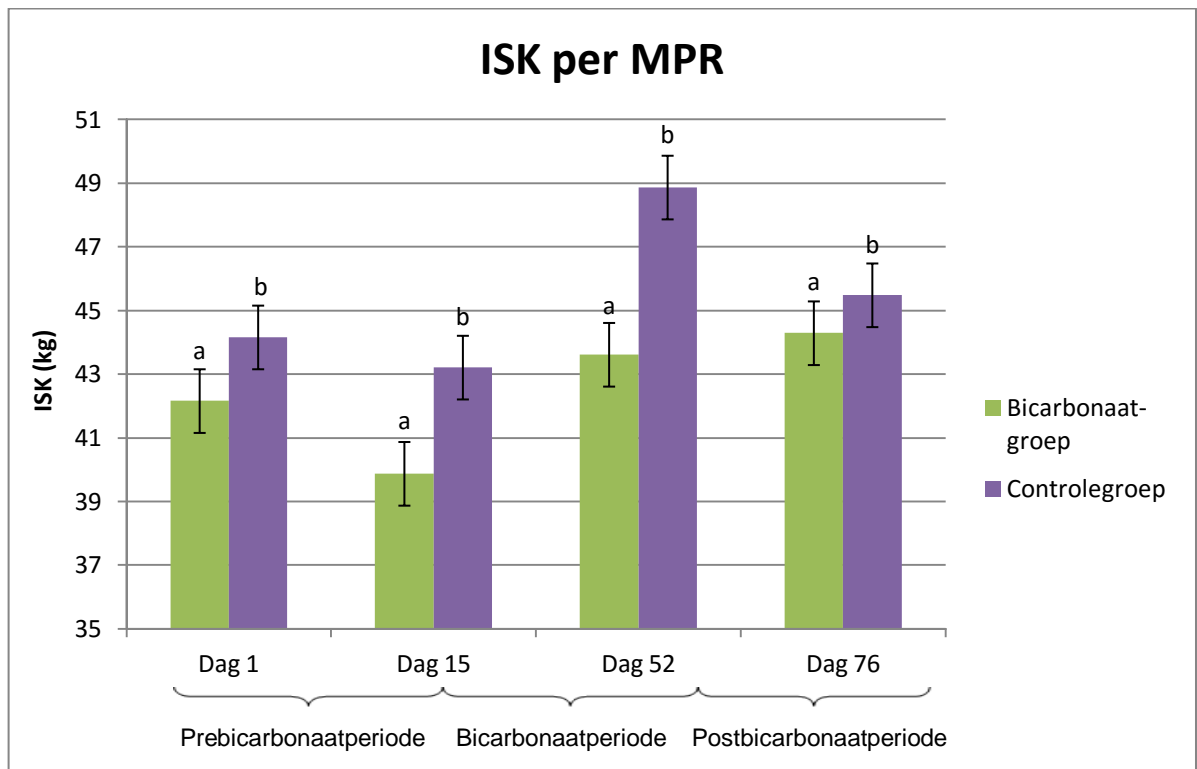
De evolutie van het melkvetgehalte tussen opeenvolgende MPR's werd telkens beïnvloed door de behandelingsgroep waartoe het dier behoorde ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0088$).

3.2.1.4 Individuele standaardkoe

3.2.1.4.1 MPR

De ISK vanuit de MPR (Figuur 3.6) toont telkens een significante invloed van de behandeling ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0027$) op de melkproductie.

Op de eerste MPR, tijdens de prebicarbonaatperiode, behaalden de bicarbonaatdieren een gemiddelde ISK van $42,2 (\pm 1,2)$ kg melk. Bij de controledieren bedroeg de gemiddelde ISK $44,2 (\pm 1,2)$ kg melk per dag. Bij de tweede MPR, op de omschakelingsdag tussen prebicarbonaat- en bicarbonaatperiode, was de gemiddelde ISK bij de bicarbonaatgroep $39,9 (\pm 1,3)$ kg melk per dag. Bij de controledieren bedroeg de ISK gemiddeld $43,2 (\pm 1,3)$ kg melk per dag. Op dag 52 was de ISK bij de bicarbonaatdieren gemiddeld $43,6 (\pm 1,2)$ kg en bij de controledieren gemiddeld $48,9 (\pm 1,2)$ kg per dag. Op de laatste MPR was de ISK bij de bicarbonaatdieren gemiddeld $44,3 (\pm 1,3)$ kg en bij de controledieren $45,5 (\pm 1,3)$ kg.



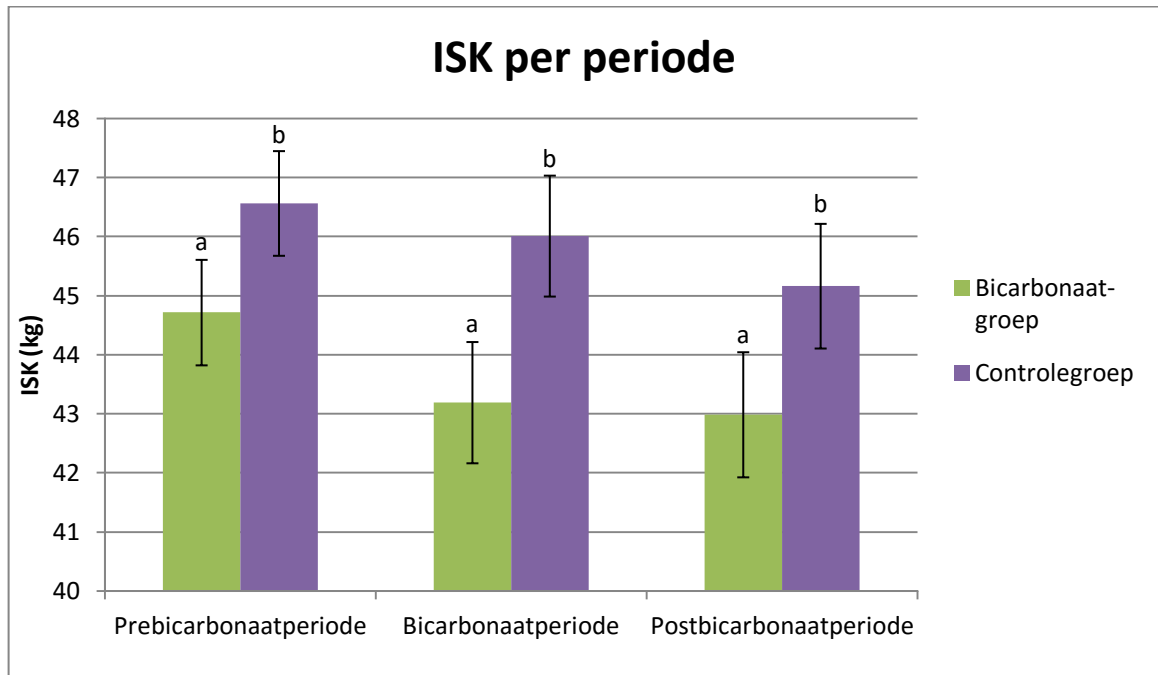
Figuur 3.6 Gemiddelde ISK (MPR) per behandelingsgroep. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

Bij de evolutie van de ISK tussen verschillende MPR's was er steeds een effect van de behandelingsgroep merkbaar ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$).

3.2.1.4.2 Lely T4C

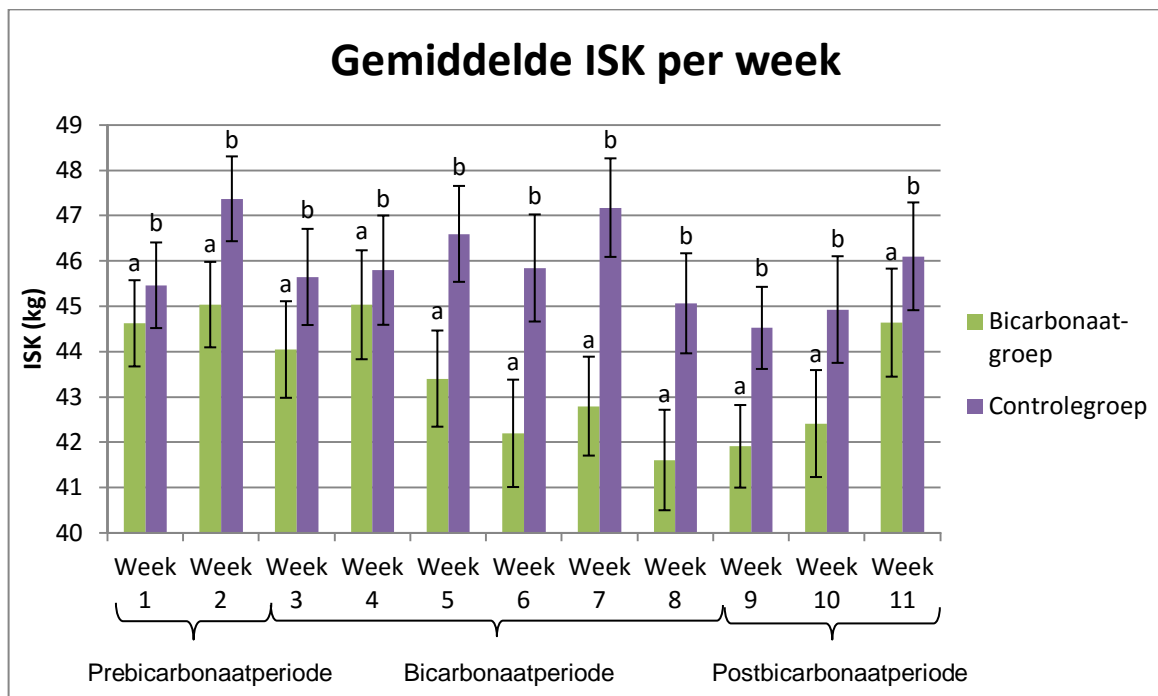
De ISK-output vanuit het managementprogramma van de melkrobot (Figuur 3.7), Lely T4C, werd eerst per proefperiode bekeken. De behandelingsgroep had telkens een significante invloed op de ISK ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$).

Tijdens de prebicarbonaatperiode was de gemiddelde ISK bij de bicarbonaattieren 44,7 ($\pm 0,9$) kg melk, bij de controledieren 46,6 ($\pm 0,9$) kg. In de bicarbonaatperiode behaalden de bicarbonaatkoeien gemiddeld een ISK van 43,2 ($\pm 1,0$) kg per dag, de controledieren gemiddeld 46,0 ($\pm 1,0$) kg. Tijdens de laatste periode, de postbicarbonaatperiode, was de gemiddelde ISK bij de bicarbonaattieren 43,0 ($\pm 1,1$) kg melk ten opzichte van 45,2 ($\pm 1,1$) kg melk bij de controledieren.



Figuur 3.7 Gemiddelde ISK (Lely T4C) per behandelingsgroep per proefperiode. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen

De evolutie in ISK tussen de prebicarbonaat- en de bicarbonaatperiode werd significant beïnvloed door de behandeling ($p = 0,0002$). Tussen de bicarbonaat- en de postbicarbonaatperiode had de behandelingsgroep eveneens een invloed ($p = 0,0016$).



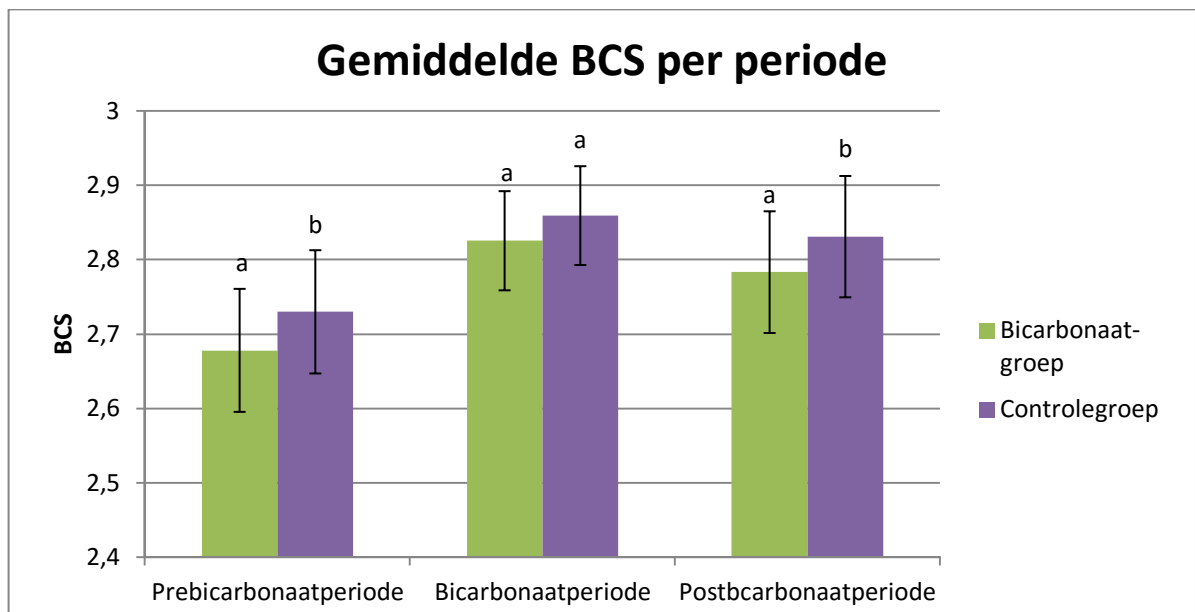
Figuur 3.8 Gemiddelde ISK (Lely T4C) per week en per behandelingsgroep. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

Figuur 3.8 geeft de gemiddelde ISK per week weer van de twee behandelingsgroepen. De behandelingsgroep had telkens een significante invloed op de gemiddelde ISK per week ($p \leq 0,05$).

3.2.2 Lichaamsconditie

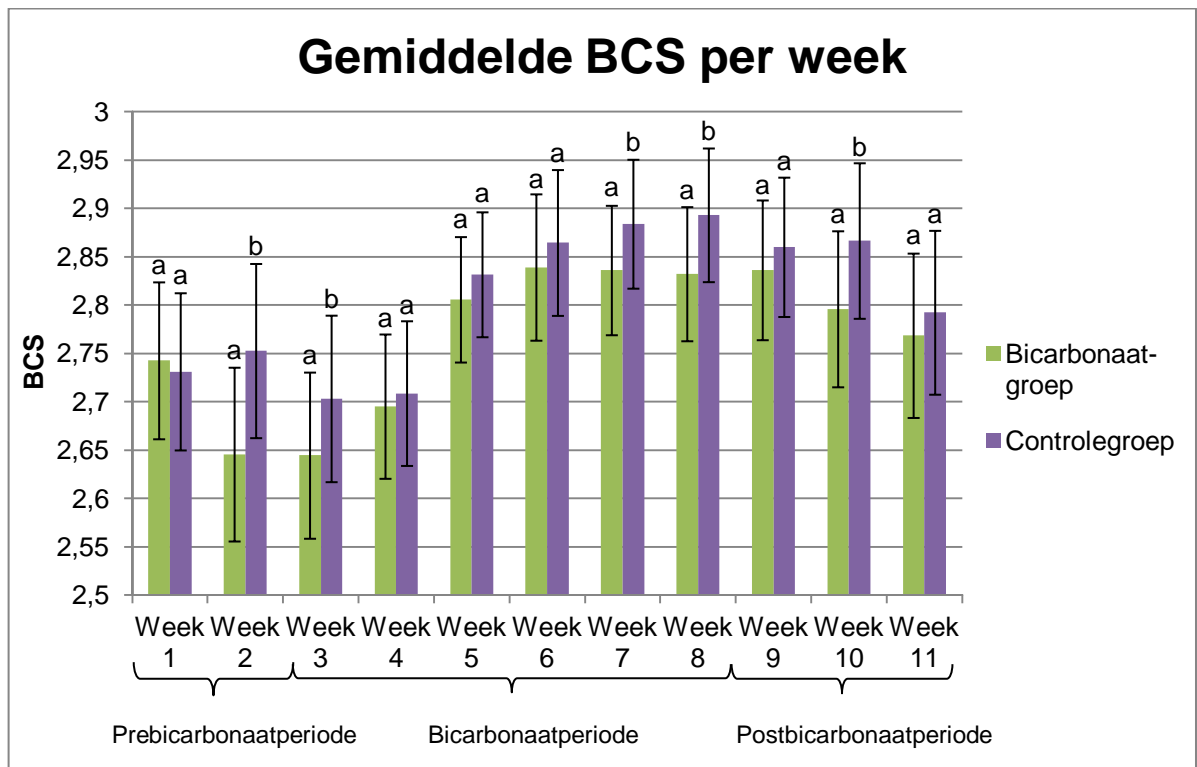
3.2.2.1 Lichaamsconditiescore

Figuur 3.9 geeft de gemiddelde BCS van de twee proefdiergroepen weer per proefperiode. Tijdens de prebicarbonaatperiode had de behandelingsgroep waarin het dier zat een significante invloed op de BCS ($p = 0,0057$). De bicarbonaatdieren kregen een gemiddelde score van $2,67 (\pm 0,08)$. De controlekoeien behaalden $2,73 (\pm 0,08)$ punten. In de bicarbonaatperiode kregen de bicarbonaatdieren een gemiddelde score van $2,83 (\pm 0,07)$. De controlekoeien scoorden toen $2,86 (\pm 0,07)$ punten. Het verschil tussen beide groepen kon hier niet verklaard worden door de behandelingsgroep ($p = 0,0843$). Tijdens de postbicarbonaatperiode beïnvloedde de behandelingsgroep de BCS wel ($p = 0,0290$). De bicarbonaatdieren hadden een BCS van $2,78 (\pm 0,08)$, terwijl de controledieren een gemiddelde van $2,83 (\pm 0,08)$ behaalden.



Figuur 3.9 Gemiddelde BCS per proefperiode en per behandelingsgroep. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

De verandering van de lichaamsconditie tussen de prebicarbonaat- en de bicarbonaatperiode werd beïnvloed door de behandeling ($p = 0,0415$). Tussen de bicarbonaat- en postbicarbonaatperiode speelde de behandeling eveneens een opmerkelijke rol ($p = 0,0349$; $p < 0,0001$).

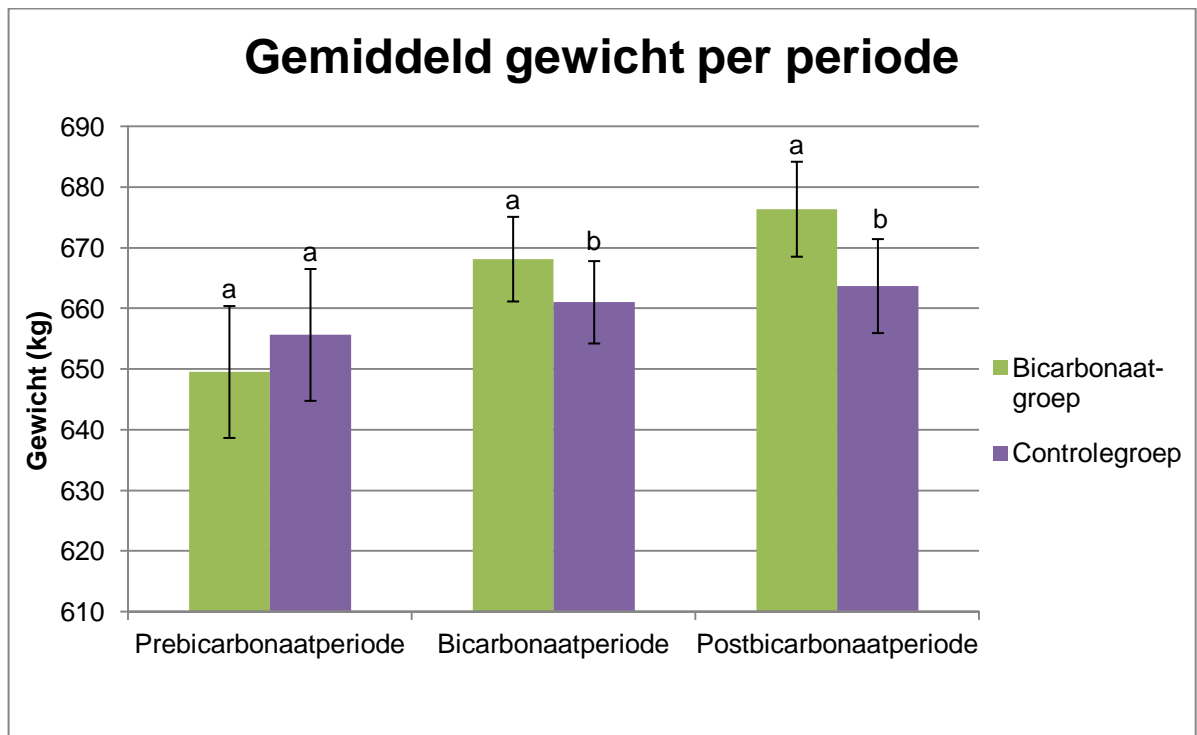


Figuur 3.10 Gemiddelde BCS per week en per behandelingsgroep. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

De resultaten van de gemiddelde BCS per behandelingsgroep zijn per week weergegeven in Figuur 3.10. Enkel tijdens de tweede, derde, zevende, achtste en tiende week zorgde de behandelingsgroep voor een significant verschil tussen de proefdiergroepen ($p < 0,0001$; $p = 0,0038$; $p = 0,0205$; $p = 0,0030$; $p = 0,0018$).

3.2.2.2 Lichaamsgewicht

Op de eerste dag van de prebicarbonaatperiode was er geen significante invloed van de groepsindeling op het gemiddelde lichaamsgewicht van de dieren ($p = 0,0710$). De dieren uit de bicarbonaatgroep wogen gemiddeld $650 (\pm 11)$ kg en de controledieren $656 (\pm 11)$ kg. Op het tweede weegmoment op dag 53, in de bicarbonaatperiode, was er een waarneembaar verschil dat door de behandeling werd veroorzaakt ($p = 0,0489$). De bicarbonaatdieren wogen toen gemiddeld $668 (\pm 7)$ kg. Bij de controledieren bedroeg het gemiddelde lichaamsgewicht $661 (\pm 7)$ kg. Op dag 71 bedroeg het gemiddelde lichaamsgewicht $676 (\pm 8)$ kg bij de bicarbonaatkoeien en $664 (\pm 8)$ bij de controlekoeien. De behandelingsgroep had een significante invloed op het gewicht ($p < 0,0001$). De lichaamsgewichten zijn per weegmoment en per behandelingsgroep weergegeven in Figuur 3.11.



Figuur 3.11 Gemiddeld lichaamsgewicht van de dieren uit de monstergroep per behandelingsgroep en per weegmoment. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

Bij de overgang van de prebicarbonaat- naar de bicarbonaatperiode, beïnvloedde de behandelingsgroep de evolutie in lichaamsgewicht ($p < 0,0001$; $p = 0,0069$). Tussen de bicarbonaat- en de postbicarbonaatperiode had de behandeling nogmaals een effect op de gewichtsverandering ($p = 0,0333$).

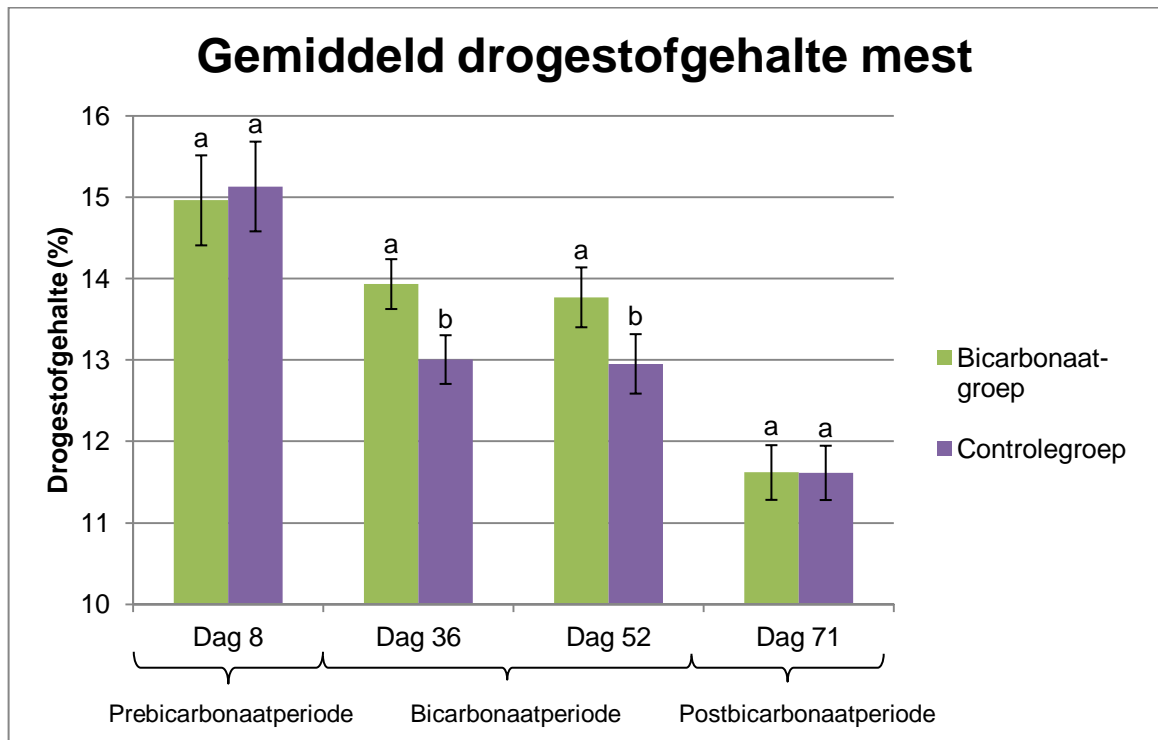
3.2.3 Mestparameters

3.2.3.1 Drogestofgehalte

Figuur 3.12 geeft de resultaten van de mestanalyse voor het drogestofgehalte weer. Bij de eerste en de laatste staalname, op dagen 8 en 71 van de proef, was er geen significante invloed van de behandelingsgroep op het drogestofgehalte van de mest ($p = 0,4035$; $p = 0,960$). Bij de twee overige staalnames, die tijdens de bicarbonaatperiode plaatsvonden, beïnvloedde de behandelingsgroep van het dier wel het drogestofgehalte van de mest ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$).

Op dag 8 was het drogestofgehalte van de mestalen van de dieren uit de bicarbonaatgroep gemiddeld $15,0 (\pm 0,6)\%$. Bij de controledieren bedroeg het drogestofgehalte gemiddeld $15,1 (\pm 0,6)\%$. Bij de tweede staalname hadden de stalen van de bicarbonaatdieren een gemiddeld drogestofgehalte van $13,9 (\pm 0,3)\%$, bij de controledieren lag het drogestofgehalte van de mest op $13,0 (\pm 0,3)\%$. Op dag 52 hadden de meststalen van de bicarbonaatdieren een gemiddeld drogestofgehalte van $13,8 (\pm 0,4)\%$, ten opzichte van $13,0 (\pm 0,4)\%$ bij de controledieren. Het

gemiddelde drogestofgehalten van de meststalen verzameld op dag 71 bedroeg 11,6 ($\pm 0,3$)% bij de bicarbonaatgroep en 11,6 ($\pm 0,3$)% bij de controledieren.



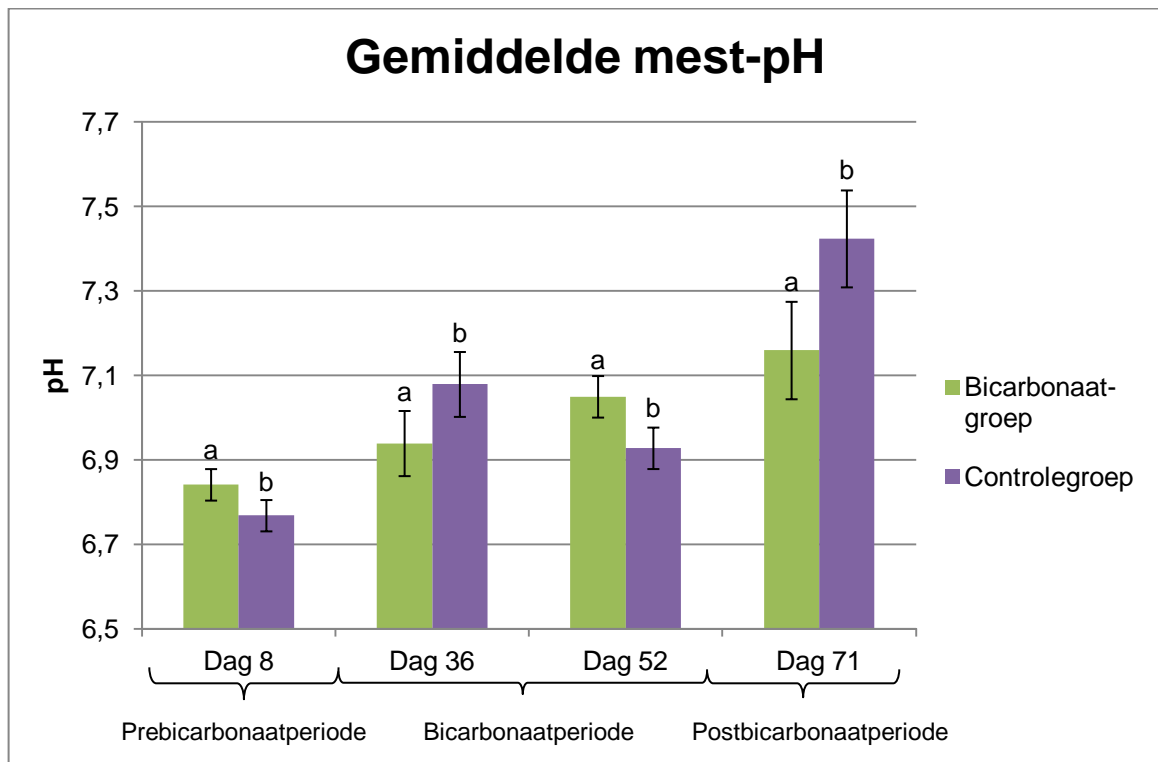
Figuur 3.12 Gemiddelde drogestofgehalten van de mest per behandelingsgroep en per staalname. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

De behandelingsgroep had enkel op de verandering in mestdrogestofgehalte tussen de derde en de vierde staalname significante invloed ($p < 0,0001$).

3.2.3.2 pH

Op de vier momenten van staalname had de behandelingsgroep waarin het dier zich bevond een waarneembare invloed op de mest-pH ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$; Figuur 3.13).

De gemiddelde mest-pH bedroeg bij de eerste staalname 6,84 ($\pm 0,04$) eenheden bij de bicarbonaatdieren en 6,77 ($\pm 0,04$) bij de controledieren. Bij de meststalen van dag 36 was de gemiddelde mest-pH bij de bicarbonaatgroep 6,94 ($\pm 0,08$) en bij de controlegroep 7,08 ($\pm 0,08$). Voor stalen van dag 52 was de gemiddelde mest-pH voor de bolusdieren 7,05 ($\pm 0,05$). Bij de controledieren bedroeg de mest-pH gemiddeld 6,93 ($\pm 0,05$). Bij de laatste staalname bedroeg de mest-pH van de bicarbonaatdieren 7,16 ($\pm 0,12$). Bij de controledieren werd een gemiddelde mest-pH van 7,42 ($\pm 0,11$) gemeten.



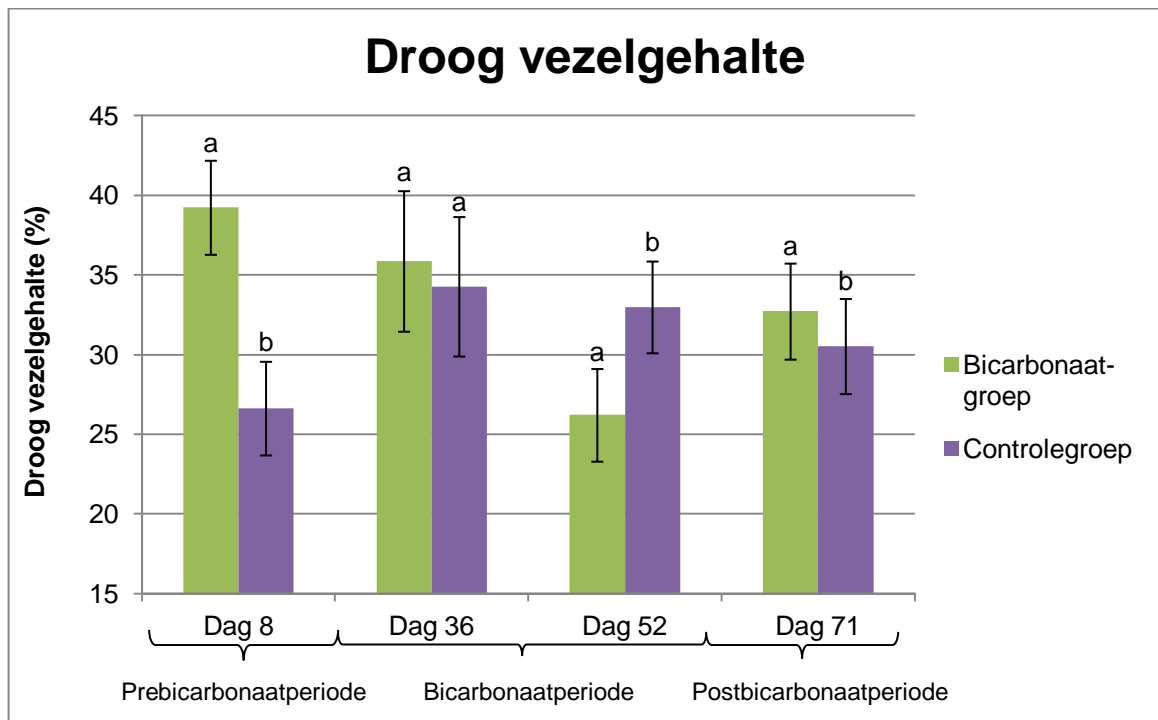
Figuur 3.13 Gemiddelde mest-pH per stalname per behandelingsgroep. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen. Bij vijf deelstalen werd het gemiddelde genomen van de twee deelstalen die het gemiddelde drogestofgehalte van de vijf deelstalen het best benaderden.

De verandering in mest-pH tussen twee stalnames stond telkens onder invloed van de behandelingsgroep waarin het dier zich bevond ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$).

3.2.3.3 Droog vezelgehalte

Figuur 3.14 geeft de resultaten van het droge vezelgehalte weer per stalname. Bij de stalnames op dag 8, dag 52 en dag 71 was er een invloed van de behandelingsgroep waar het dier toe behoorde op het gemiddelde droog vezelgehalte ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0169$), maar niet bij de stalen die op dag 36 genomen waren ($p = 0,190$).

Op dag 8 was het droog vezelgehalte van de mest van de dieren uit de bicarbonaatgroep gemiddeld $39,2 (\pm 3,0)\%$. Bij de controledieren lag het droog vezelgehalte op $26,6 (\pm 2,9)\%$. Bij de volgende stalname, op dag 36, bedroeg het droog vezelgehalte gemiddeld $35,9 (\pm 4,4)\%$ bij de bicarbonaatgroep en $34,3 (\pm 4,4)\%$ bij de controledieren. Mest van de bicarbonaattieren had op dag 52 gemiddeld een droog vezelgehalte van $26,2 (\pm 2,9)\%$. Voor controledieren was dit gemiddeld $33,0 (\pm 2,9)\%$. Bij de laatste stalname was het droog vezelgehalte bij de bicarbonaattieren gemiddeld $32,7 (\pm 3,0)\%$. Bij de controledieren lag het droog vezelgehalte gemiddeld op $30,5 (\pm 3,0)\%$.



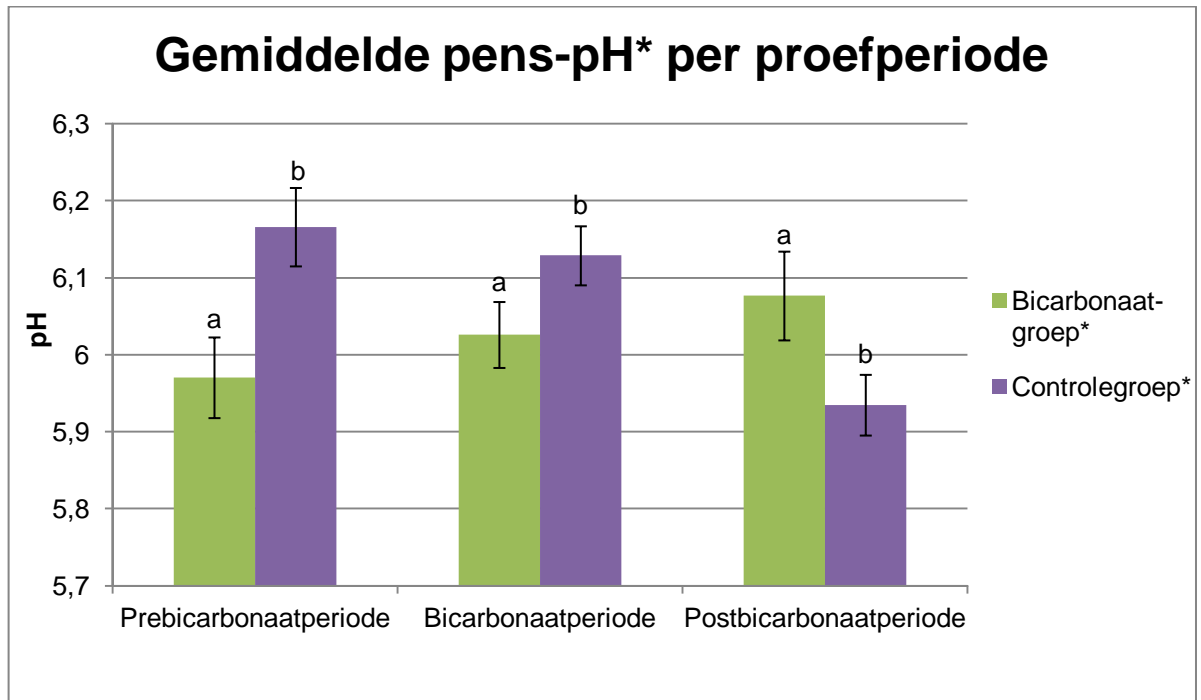
Figuur 3.14 Gemiddelde droog vezelgehalte per behandelingsgroep en per stalname. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

3.2.4 Pens-pH

De pens-pH werd beïnvloed door de behandelingsgroep, het lactatienummer, het weeknummer en de lactatiedagen ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p < 0,0001$). Bij de bolusdieren van de bicarbonaatgroep bedroeg de pH, over de volledige proef bekeken, gemiddeld $5,98 (\pm 0,03)$. Bij de bolusdieren uit de controlegroep was de pens-pH gemiddeld $6,06 (\pm 0,03)$.

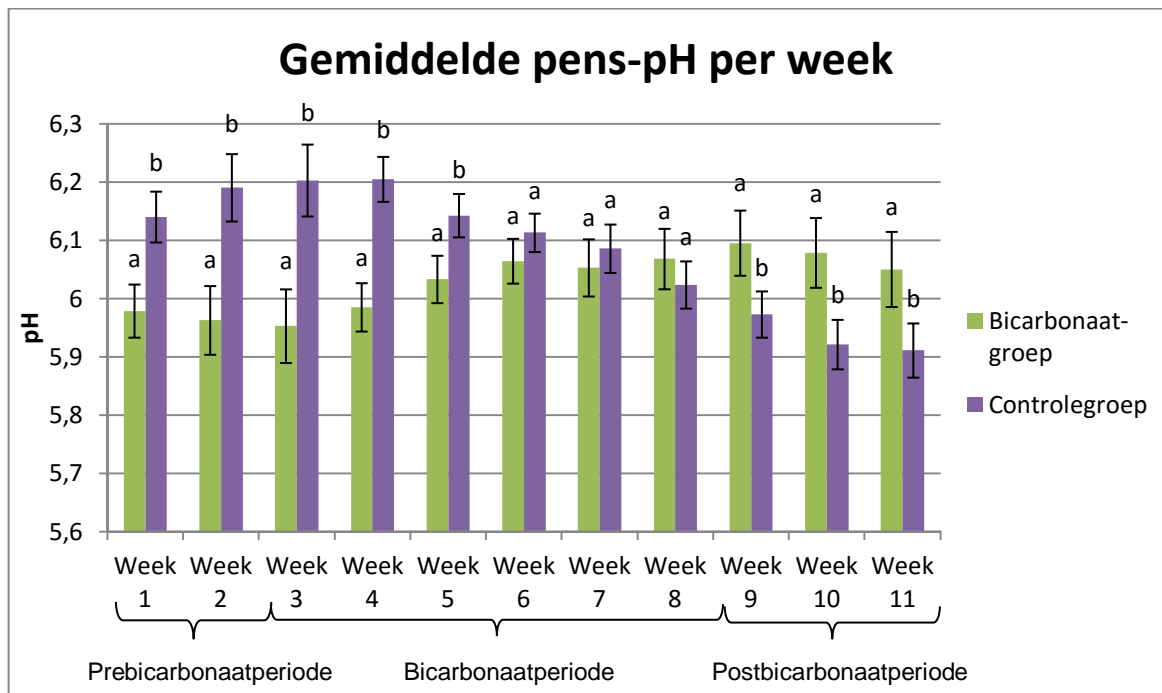
De gemiddelde pens-pH per proefperiode is weergegeven in Figuur 3.15. De gemiddelde pens-pH verschilde tijdens alledrie de proefperiodes onder invloed van de behandelingsgroep ($p < 0,0001$; $p = 0,0002$; $p = 0,0190$).

Tijdens de prebicarbonaatperiode was de pens-pH gemiddeld $5,97 (\pm 0,05)$ bij de bolusdieren uit de behandelingsgroep en $6,17 (\pm 0,05)$ bij de bolusdieren van de controlegroep. In de bicarbonaatperiode hadden de dieren uit de bicarbonaatgroep een gemiddelde pens-pH van $6,03 (\pm 0,04)$, bij de dieren uit de controlegroep was de pens-pH gemiddeld $6,13 (\pm 0,04)$. Tijdens de postbicarbonaatperiode bedroeg de pens-pH van de bicarbonaatdieren gemiddeld $6,08 (\pm 0,06)$, ten opzichte van $5,93 (\pm 0,04)$ bij de controledieren.



Figuur 3.15 Gemiddelde pens-pH* per behandelingsgroep en per proefperiode. * De twee dieren die niet de volledige proefperiode uitdeden of waarvan de bolus uitviel, werden uit de gegevens geschrapt. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

In Figuur 3.16 wordt de gemiddelde pens-pH per week weergegeven van de twee behandelingsgroepen.



Figuur 3.16 Gemiddelde pens-pH per week en per behandelingsgroep. De twee dieren die niet de volledige proefperiode uitdeden of waarvan de bolus uitviel werden uit de gegevens geschrapt. Verschillende letters duiden op significante ($p \leq 0,05$) verschillen tussen de behandelingsgroepen.

3.2.5 Relaties

Er werd gezocht naar relaties tussen de pens-pH en de melkgift, de weekproductie, het melkvetgehalte, de ISK, de BCS en de bicarbonaatgift. De gevonden correlatiecoëfficiënten waren veelal significant, maar zeer klein. De effectieve waarde van deze correlaties was dan ook miniem.

4 DISCUSSIE

4.1 Melkparameters

4.1.1 Melkproductie

De controledieren produceerden tijdens de hele proef gemiddeld meer melk dan de dieren uit de bicarbonaatgroep. Zowel uit de MPR-gegevens van de dagproducties en ISK (Figuur 3.2; Figuur 3.6), de gemiddelde weekproducties (Figuur 3.3, Figuur 3.4) als de gemiddelde ISK per week (Figuur 3.8) blijkt dat het verschil in melkproductie tussen de bicarbonaatgroep en de controlegroep groter wordt tijdens de bicarbonaatperiode. Na de periode van bicarbonaatverstrekking verkleint het verschil in melkproductie tussen de behandelingsgroepen weer. Dit is tegenovergesteld aan de verwachting, aangezien eerder onderzoek aantoonde dat toediening van bicarbonaat de melkgift doet toenemen (Rogers et al., 1985; Erdman, 1988; Cruywagen, Taylor, Beya & Calitz, 2015) of niet beïnvloedt (Emery, Brown & Thomas, 1964; Erdman, Hemken & Bull, 1982; Stokes, Vandemark & Bull, 1986; Solorzano et al., 1988).

De productievermindering bij de bicarbonaatdieren kan te wijten zijn aan een verminderde krachtvoeropname in de robot door de slechte smaak van de bicarbonaatkorrel (Emery et al., 1964; Erdman, Douglass, Hemken & Mann, 1982; Wilkinson, 2004; Krause et al., 2009). Na afloop van de huidige proef bleek dat de bicarbonaatkorrel slechts 0,02 g smaakstof per kg korrel bevatte, in plaats van 1,00 g/kg. Mogelijk was dit onvoldoende om de smaak van natriumbicarbonaat te maskeren.

Erdman et al. (1982) onderzochten of er een verschil was in krachtvoeropname tussen plotse of graduele toevoeging van natriumbicarbonaat aan het krachtvoer. Het gehalte natriumbicarbonaat in het krachtvoer was van het begin 1,5% of werd stelselmatig tot dat niveau verhoogd. Dit kwam neer op een aanbod van 129 à 164 g natriumbicarbonaat per dag. Tijdens de eerste twee weken zagen Erdman et al. (1982) een verminderde krachtvoeropname bij de groep die vanaf de eerste dag 1,5% natriumbicarbonaat bij het krachtvoer kregen en niet bij de groep waarbij de natriumbicarbonaattoediening gedurende drie weken werd opgebouwd. De verminderde opname werd echter veroorzaakt door enkele dieren: de meerderheid van de proefdieren vertoonde geen afwijkende krachtvoeropname door toediening van de bicarbonaat. Tijdens deze twee eerste weken was er zowel bij de plotse als bij de graduele toediening een daling in melkproductie, maar de productievermindering verdween in de derde week.

In dit onderzoek werd tijdens de bicarbonaatperiode onmiddellijk 250 g natriumbicarbonaat per dag gedoseerd. Tijdens de eerste week van de bicarbonaatperiode daalde de melkproductie bij zowel controle- als bicarbonaatdieren. In de tweede bicarbonaatweek nam de melkproductie toe bij de bicarbonaatdieren, maar daalde de melkproductie bij de controledieren. Deze trend werd in de volgende weken niet verder gezet. In tegendeel, het verschil in melkproductie tussen

bicarbonaatgroep en controlegroep nam enkel toe. De melkproductie van de bicarbonaatgroep was telkens duidelijk lager dan bij de controlegroep. Dit suggereert dat de krachtvoeropname niet verbeterde bij de bicarbonaatkoeien na de tweede week van de bicarbonaatperiode, maar dit kunnen we niet met videofragmenten bewijzen.

Het restvoer dat de bicarbonaatkoeien in de robot achterlieten, kon door andere dieren worden opgenomen. Dit konden zowel dieren uit de bicarbonaatgroep, dieren uit de controlegroep als dieren zijn die niet aan het onderzoek meededen. Op de laatste volledige dag dat de camera's de voeropname registreerden, kregen de bicarbonaaddieren voor de 14e dag de bicarbonaatkorrel toegediend. Toen was de krachtvoeropname bij de bicarbonaaddieren opmerkelijk lager dan bij de controledieren. Op die dag kwamen meermaals controledieren na bicarbonaaddieren in de robot. In 34,6% van de gevallen had de bicarbonaatkoe niet al haar krachtvoer opgenomen en kon een controlekoe naast haar eigen krachtvoer het restvoer van de bicarbonaatkoe opnemen. Tussen middernacht en 08u44 van de 15e bicarbonaatdag (proefdag 29) werden de laatste camerabeelden opgenomen. In die periode konden controlekoeien in 40,0% van de keren dat ze na een bicarbonaatkoe in de robot kwamen, voerresten van bicarbonaatkoeien opeten. Gemiddeld namen de bicarbonaaddieren mogelijk dus ook minder krachtvoer op dan de controledieren. In eerdere onderzoeken werd aangetoond dat een lagere krachtvoederopname leidt tot een lagere melkproductie (Lawrence, O'Donovan, Boland, Lewis & Kennedy, 2015).

Hu & Murphy (2005) analyseerden de resultaten van 27 onderzoeken waarin natriumbicarbonaat werd gevoerd aan koeien in vroege lactatie of midlactatie. De onderzoekers concludeerden dat toediening van natriumbicarbonaat een invloed had op de prestaties van deze dieren indien het rantsoen snijmaïs als basisbestanddeel bevatte. Erdman (1988) kwam tot dezelfde conclusie. Daarnaast concludeerde Erdman (1988) dat de effectiviteit van natriumbicarbonaat minder uitgesproken was wanneer toegediend bij rantsoenen waarvan meer dan 30% van het drogestofgehalte opgenomen werd als ruwvoer. In het huidige onderzoek bestond het rantsoen voor een belangrijk deel uit snijmaïs (2.2.2.2 Huisvesting en rantsoen). Op drogestofbasis bestond circa 75% van het rantsoen van zowel voor dag 33 als na dag 33 uit ruwvoer. Het is dus mogelijk dat het effect van natriumbicarbonaat minder tot uiting komt ten gevolge van het hoge aandeel ruwvoer in het rantsoen op droge basis.

Uit statistische analyse van verschillende onderzoeken, bleek de ideale dosering natriumbicarbonaat 7 tot 10 g per kg droge stof te zijn (Hu & Murphy, 2005). Dat is minder dan de dosis die de koeien in het huidige onderzoek kregen aangeboden. Het gemiddelde aanbod van natriumbicarbonaat bedroeg 213 g per dag (3.1.2 Bicarbonaatgift), zijnde gemiddeld 11,3 à 11,6 g natriumbicarbonaat per kg droge stof. De effectieve opname van natriumbicarbonaat van de huidige proef is echter niet exact gekend.

4.1.2 Melkvetgehalte

Tijdens de bicarbonaatperiode nam het melkvetgehalte (Figuur 3.5) bij de controledieren sterker toe dan bij de bicarbonaatdieren, maar bleef het melkvetgehalte bij de bicarbonaatdieren nog net hoger. In de postbicarbonaatperiode nam het melkvetgehalte bij beide groepen sterk toe. Het hoger melkvetgehalte van de bicarbonaatdieren in de bicarbonaatperiode kan mogelijk niet worden verklaard door de bicarbonaattoediening zoals in eerdere onderzoeken (Solorzano et al., 1988; Hu & Murphy, 2005), aangezien het melkvetgehalte tijdens de twee MPR's in de prebicarbonaatperiode bij de dieren uit de bicarbonaatgroep al hoger lag. Onvoldoende opname van de bicarbonaatkorrel kan een verklaring zijn voor het uitblijven van een effect. Er werd bovendien niet in alle proeven met natriumbicarbonaat een verhoging van het melkvetgehalte waargenomen (Clayton et al., 1999).

Verschillende auteurs (Nocek, 1997; Nordlund, 2003; Oetzel, 2007) stellen dat bij SARA, dus bij verlaagde pens-pH, een melkvetdepressie kan worden waargenomen. Het gemiddelde melkvetgehalte was in de huidige proef nooit kleiner dan 3,20%. Oetzel (2007) beweert dat dit voor Holsteinkoeien de bovengrens is om van een melkvetdepressie te kunnen spreken. Deze grens is echter niet op epidemiologisch onderzoek gebaseerd, maar eerder een praktische richtlijn (Oetzel, 2007). Daarnaast sluit een goed gemiddeld melkvetgehalte de aanwezigheid van SARA niet noodzakelijk uit (Nordlund, 2003). Enerzijds kan een groter aantal dieren met een hoog melkvetgehalte het gemiddelde optrekken (Nordlund, 2003), maar anderzijds is het verband tussen melkvetgehalte en SARA complex en inconsequent (Oetzel, 2007).

Het verloop van het gemiddeld melkvetpercentage kan in deze proef niet door de pens-pH (Figuur 3.15, Figuur 3.16) worden verklaard. De pens-pH volgt bij de twee diergroepen immers een verschillende evolutie, terwijl de evolutie bij het melkvetgehalte voor beide groepen gelijkaardig is. Visueel is er een omgekeerd evenredige relatie tussen de gemiddelde weekproductie en het melkvetgehalte. Een laag melkvetgehalte komt met een hogere gemiddelde weekproductie overeen en andersom. Tussen het melkvetgehalte enerzijds en de dagproductie of de ISK vanuit de MPR (Figuur 3.6) anderzijds, is deze relatie minder duidelijk. Het melkvetgehalte komt echter vanuit dezelfde staalname van de MPR, dus indien er effectief een verband zou zijn, zou dat normaalgesproken beter tot uiting moeten komen uit deze gegevens. Het melkvetgehalte vertoont noch met de BCS van overeenkomstige weken (Figuur 3.10), noch met de overige geteste parameters een duidelijke relatie.

4.2 Lichaamsconditie

Een slechte lichaamsconditie bij voldoende energieopname is een van de kenmerken van subacute pensverzuring (Nordlund, 2003). De dieren in de huidige proef bevinden zich in het begin tot midden van de lactatie, ligt de gewenste BCS voor deze lactatiefasen ligt tussen 2,25 (ondergrens vroege lactatie) tot 3,25 (bovengrens midden lactatie) (Elanco Animal Health, 1997). De waargenomen gemiddelden liggen binnen in dit bereik. Hier moet de kanttekening bij worden gemaakt dat het niet

vanzelfsprekend is hieromtrent conclusies te trekken, aangezien de spreiding in dagen in lactatie bij de proefdieren vrij groot is en daardoor de ideale BCS-zone eveneens. Bij de proefdieren werden gedurende de proef eveneens enkele keren te magere ($BCS \leq 2,25$) en te vette dieren aangetroffen ($BCS \geq 3,75$).

Een vergelijking van de BCS en de gemiddelde weekproductie per behandelingsgroep (Figuur 3.10, Figuur 3.4) suggereert een omgekeerd evenredige relatie tussen beide parameters. Dit omgekeerd verband tussen BCS en de gemiddelde weekproducties is het meest uitgesproken bij de bicarbonaatgroep. Deze omgekeerde evenredigheid wordt in de literatuur verklaard door de energiebalans (Sumner & McNamara, 2007). Rond de kalving heeft het dier een negatieve energiebalans door een snel toenemende melkproductie en een nog niet optimale voederopname (Sumner & McNamara, 2007). Volgens Roche et al. (2009) kan een dier tot 50 à 100 dagen na afkalven conditie verliezen. Volgens Sumner & McNamara (2007) wordt rond dag 90 de piekproductie bereikt en is het dier dan aangepast aan een hoge voederopname. De energiebalans is dan niet langer negatief en de BCS neemt toe (Sumner & McNamara, 2007).

Bij de lichaamsgewichten (Figuur 3.11) is niet geheel dezelfde trend waar te nemen als bij de BCS. Bij beide behandelingsgroepen neemt het lichaamsgewicht tussen de weegmomenten telkens toe. De gewichtstoename is bij de bicarbonaatdieren telkens duidelijker dan bij de controledieren. De bicarbonaatdieren uit de monstergroep starten met een lager gewicht dan de controledieren, maar wegen op het einde van de bicarbonaatperiode (tweede weegmoment) duidelijk meer. Tussen de bicarbonaat- en postbicarbonaatperiode is de gewichtstoename bij de controledieren miniem. Bij de bicarbonaatdieren is de toename iets groter.

Tussen de bicarbonaatperiode en de postbicarbonaatperiode neemt het lichaamsgewicht eerder toe, terwijl de BCS licht daalt. Nochtans wordt verwacht dat het verloop van de BCS en het lichaamsgewicht vrij gelijkaardig zou zijn (Sumner & McNamara, 2007). In het begin van de lactatie stijgt de voeropname voortdurend (Sumner & McNamara, 2007). De effectieve verschillen in lichaamsgewicht komen daardoor mogelijk niet helemaal tot uiting door het gewicht van het opgenomen voer bij wege (National Research Council, 2001; Roche et al., 2009). De koe lijkt dan onterecht zwaarder te zijn dan ze effectief is.

Er zijn ook enkele andere mogelijke oorzaken voor de onduidelijke relatie tussen BCS en lichaamsgewicht in deze proef. Het lichaamsgewicht van de dieren kan verschillen afhankelijk of het dier al was gemolken of niet op moment van de lichaamsgewichtbepaling, aangezien de dieren zelf kunnen kiezen wanneer ze de robot voor een melkgift bezoeken. Daarnaast kunnen fouten of onnauwkeurigheden bij de bepaling van de BCS voor een ander beeld zorgen. Een andere mogelijke verklaring voor verschillend verloop van BCS en lichaamsgewicht, is dat het verloop van het lichaamsgewicht van de monstergroep niet representatief is voor de volledige groep proefdieren.

4.3 Mestparameters

4.3.1 Drogestofgehalte en droog vezelgehalte

Meststalen met een hoger drogestofgehalte, en dus meer onverteerde resten, zijn meststalen die vloeibaarder uitzien (Ireland-Perry & Stallings, 1993) zoals bij diarree. Er is dus een hoger drogestofgehalte te verwachten bij voorkomen van SARA (Nocek, 1997; Kleen et al., 2003, Nordlund, 2003). Zowel bij de bicarbonaatdieren als bij de controledieren bleef het drogestofgehalte van de mest nagenoeg gelijk gedurende de bicarbonaatperiode. Gedurende de postbicarbonaatperiode neemt het drogestofgehalte af. Aangezien de trend bij zowel controle- als bicarbonaatdieren gelijkaardig verloopt, lijkt er geen effect van de bicarbonaattoediening te zijn. Dit suggereert dat er geen of onvoldoende mate van SARA voorkwam om diarree te veroorzaken.

Het droog vezelgehalte geeft aan hoeveel van de onverteerde resten in de mest groter waren dan de maasgrootte van de zeef (1,30 x 1,47 mm). Hoe hoger dit percentage, hoe minder goed de vertering verliep (Hall, 2002; Hulsen & Aerden, 2013). Bij de bicarbonaatdieren werd in week 8 een lager gehalte aan onverteerde resten waargenomen ten opzichte van week 1, week 3 en week 11. Dit kan wijzen op betere vertering van vezels in week 8. Bij de controledieren was er geen opvallend betere vezelvertering. De vezelvertering door micro-organismen hangt af van de pens-pH. Bij een hogere pens-pH verloopt de vezelafbraak vlotter (Beauchemin & Penner, 2009). Het is mogelijk dat de natriumbicarbonaattoediening verantwoordelijk is voor de betere vezelafbraak bij de bicarbonaatdieren. Deze hypothese kan echter niet bevestigd worden. De pens-pH verschilt in week 8 namelijk niet significant tussen bicarbonaatdieren en controledieren.

4.3.2 Mest-pH

Bij de bicarbonaatdieren uit de monstergroep neemt de mest-pH (Figuur 3.13) telkens toe tussen opeenvolgende staalnames. Bij de controledieren neemt de mest-pH niet continu toe. Tussen de eerste en de tweede staalname, beiden tijdens de prebicarbonaatperiode, neemt de mest-pH bij de controledieren met ongeveer 0,3 eenheden toe. Op het eind van de bicarbonaatperiode is de mest-pH weer wat lager. In de postbicarbonaatperiode stijgt de mest-pH van de controledieren sterk. Een lagere mest-pH kan wijzen op SARA, maar dit verband is niet eenduidig (Morgante et al., 2009; Danscher et al., 2015).

De daling van de mest-pH bij de controledieren op het eind van de bicarbonaatperiode kan wijzen op pensverzuring (Morgante et al., 2009; Danscher et al., 2015). Dit wordt echter niet gereflecteerd door de gemiddelde pens-pH op het einde van de bicarbonaatperiode, aangezien de pens-pH in week 8 nog gemiddeld 6,02 bedraagt bij de controledieren. Indien er sprake was van SARA zou de gemiddelde pens-pH vermoedelijk lager zijn (Maulfair, McIntyre & Heinrichs, 2013). De sterke stijging van de mest-pH van de controledieren in de postbicarbonaatperiode kan evenmin door de pens-pH verklaard worden, aangezien de pens-pH bij de controledieren dan net lager is. Bij de

bicarbonaatgroep komt de evolutie in mest-pH beter overeen met de evolutie in pens-pH. De inconsequente resultaten die in dit eindwerk werden gevonden, suggereren dat de mest-pH geen goede indicator is voor SARA, zoals in eerdere onderzoeken al werd gesteld (Enemark, Jørgensen & Kristensen, 2004; Li et al., 2012).

4.4 Pens-pH

De verwerkte SAS-data tonen een zeer kleine, doch significante correlatie tussen de hoeveelheid aangeboden bicarbonaatkorrel en de pens-pH. De correlatiecoëfficiënt is echter zo klein, dat deze relatie geen waarde heeft voor het onderzoek. Onderzoek van Paton et al. (2006) toonde eveneens geen duidelijke relatie tussen natriumbicarbonaattoediening en de pens-pH. In andere onderzoeken werd er echter wel een positieve trend (Miller, Hemken, Waldo, Okamoto & Moore, 1965; Clayton et al., 1999) of een significante pH-verhoging vastgesteld bij consumptie van een rantsoen met natriumbicarbonaat (Marden et al., 2008).

Ondanks de lage correlatiecoëfficiënt, stijgt de pens-pH van de bicarbonaatkoeien wel doorheen de proef terwijl de pens-pH van de controlekoeien afneemt (Figuur 3.15, Figuur 3.16). De natriumbicarbonaattoediening kan een mogelijke verklaring zijn voor de tegengestelde evolutie in pens-pH bij de verschillende behandelingsgroepen (Marden et al., 2008). De exacte natriumbicarbonaatopname is echter niet gekend, dus dit kan niet met zekerheid worden geconcludeerd.

Indien de hypothese van verminderde krachtvoeropname bij de bicarbonaatkoeien klopt, kan de verhoging van de pens-pH (Figuur 3.15, Figuur 3.16) in de bicarbonaatperiode worden verklaard door verminderde opname van snel fermenteerbare koolhydraten (Lean et al., 2014). Deze hypothese verklaart echter niet waarom de pens-pH in de postbicarbonaatperiode verder toeneemt bij de bicarbonaatdieren.

Bij de controlegroep verlaagt de gemiddelde pens-pH vanaf week 4 tot het einde van de proef. Als de controledieren inderdaad aanzienlijk meer krachtvoer opnamen dan de bicarbonaatdieren, kan dat verklaren waarom de pens-pH afneemt (Lean et al., 2014). De pens-pH van de controledieren stabiliseert tussen week 10 en week 11. Het is aannemelijk dat de dieren uit de bicarbonaatgroep toen minder krachtvoerresten lieten liggen. De bicarbonaatkorrel die bij de bicarbonaatdieren voor een aversie voor het krachtvoer zorgde, werd immers niet meer toegediend. De controledieren konden mogelijk dus ook minder extra krachtvoer opnemen, waardoor de pens-pH niet verder zakte. Deze hypothese kan echter niet worden gecontroleerd.

CONCLUSIE

Tegen alle verwachtingen in verminderden de prestaties van de dieren die natriumbicarbonaat kregen toegediend. Deze vaststelling wordt mogelijk veroorzaakt door een fout in de productie van de bicarbonaatkorrel. De bicarbonaatkorrel bevatte slechts 0,002% smaakstof in plaats van de voorziene 0,1%. Camerabeelden toonden aan dat de bicarbonaatkoeien hun krachtvoer minder goed opnamen. Dit kwam waarschijnlijk door de onaangename smaak van de bicarbonaatkorrel, die door de robot gelijktijdig met het krachtvoer werd aangeboden. Hieruit blijkt het belang van het maskeren van de smaak van natriumbicarbonaat wanneer aangeboden als korrel.

Het verschil in krachtvoeropname kwam ten eerste tot uiting in de melkproductie. Tijdens de bicarbonaatperiode daalde de melkproductie van de bicarbonaatdieren sterker dan bij de controledieren. In de daaropvolgende postbicarbonaatperiode verkleinde het verschil tussen de twee behandelingsgroepen. De melkproductie nam bij de bicarbonaatdieren sterker toe in vergelijking met de controledieren. Dit bevestigt dat de smaak van natriumbicarbonaat nefast was voor de krachtvoeropname. Wanneer het supplement niet meer werd toegediend, nam de voeropname en bijgevolg ook de melkproductie weer toe. Verder had de bicarbonaatbehandeling geen impact op de evolutie van het melkvetgehalte. Wel was er een trend waarneembaar die een omgekeerd evenredige relatie suggereerde tussen de evolutie van het melkvetgehalte en de evolutie van de gemiddelde weekproductie. Dit werd echter niet bevestigd door het verloop van de dagproducties en ISK vanuit de MPR-resultaten.

De evolutie van de lichaamsconditiescore (BCS) in de vroege lactatie tot midden lactatie is omgekeerd evenredig met de evolutie van de gemiddelde weekproducties doorheen de ganse proefperiode. Hogere gemiddelde weekproducties komen overeen met lagere gemiddelde BCS en vice versa. Dit wordt verklaard door de energiebalans. In het begin van de lactatie is deze balans negatief door toenemende melkproductie en onvoldoende voeropname. Bijgevolg verslechtert de lichaamsconditie. Tijdens de midlactatie neemt de melkproductie stelselmatig af. Eens de voeropname voldoende hoog is, wordt de energiebalans positief en herstelt de lichaamsconditie.

De BCS en het lichaamsgewicht volgden niet helemaal dezelfde trend. Hiervoor zijn meerdere verklaringen mogelijk. Ten eerste waren sommige koeien net gemolken, anderen moesten nog gemolken worden op het moment van wegen. Bovendien draagt opgenomen voer dat nog niet verteerd is wel bij aan het gemeten gewicht, maar niet aan het effectieve lichaamsgewicht van de koe. Verder zijn onnauwkeurigheden bij het scoren van de BCS niet uitgesloten, dit is tenslotte een subjectieve waarneming. Een laatste mogelijkheid is dat de selectie van koeien voor weging niet representatief is voor de hele groep proefdieren.

Het drogestofgehalte evolueerde voor beide behandelingsgroepen gelijkaardig. Het droog vezelgehalte van de bicarbonaatdieren was tijdens de bicarbonaatperiode lager dan de controlegroep en wijst dus op een betere vezelvertering. Aangezien de pens-pH van de

bicarbonaatsdieren op dat moment niet uitgesproken verschilden van de controledieren, kan de betere vezelvertering niet door de bicarbonaatverstrekking worden verklaard. De mest-pH toonde geen duidelijk verband met de pens-pH doorheen de proef. Enkel bij de bicarbonaatgroep leken beide parameters eenzelfde trend te volgen. Dit werd ook in andere onderzoeken bevestigd en toont aan dat de mest-pH geen betrouwbare indicator is voor pensverzuring.

Zoals gezegd vertoont de pens-pH geen duidelijke correlatie met de bicarbonaatgift. Een positief effect van de natriumbicarbonaattoediening wordt evenwel niet uitgesloten. De pens-pH bij de bicarbonaatsdieren nam doorheen de proef toe, terwijl de pens-pH van de controledieren afnam. De daling van de pens-pH van de controledieren in de bicarbonaatperiode kan te wijten zijn aan een hogere krachtvoeropname. Dit kan door afwezigheid van camerabeelden niet met zekerheid worden gezegd.

Dit onderzoek toont eerder de effecten van verminderde krachtvoeropname dan van toevoeging van natriumbicarbonaat aan het rantsoen bij melkvee. Toch zijn er ook voorzichtig positieve invloeden van bicarbonaatsupplementatie op de pens-pH gevonden. Verder onderzoek moet aantonen of natriumbicarbonaat geschikt is om als korrel aan het rantsoen toe te voegen met het oog op individuele supplementatie bij melkvee.

LITERATUURLIJST

- Akin, D. E. & Borneman, W. S. (1990). Role of Rumen Fungi in Fiber Degradation. *Journal of Dairy Science*, 73 (10), 3023 - 3032. doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)78989-8
- Allen, M. S., Bradford, B. J. & Oba, M. (2009). BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*, 87 (10), 3317 – 3334. doi:10.2527/jas.2009-1779
- AlZahal, O., Kebreab, E., France, J., Froetschel, M. & McBride, B. W. (2008). Ruminal Temperature May Aid in the Detection of Subacute Ruminal Acidosis. *Journal of Dairy Science*, 91 (1), 202 - 207
- Archimède, H., Sauvant, D. & Schmidely, P. (1997). Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. *Reproduction Nutrition Development*, 37 (2), 173 - 189
- Asrat, M., Tadesse, G. H., Gounder, R. V. & Nagappan, R. (2013). Prevalence and Treatment of Ketosis in Dairy Cows in and Around Addis Ababa, Ethiopia. *British Journal of Dairy Sciences*, 3 (3), 26 - 30
- Bauchop, T. (1989). Biology of gut anaerobic fungi. *BioSystems*, 23 (1), 53 - 64. doi:10.1016/0303-2647(89)90008-7
- Beauchemin, K.A., McAllister, T. A., Dong, Y., Farr, B. I. & Cheng, K. J. (1994). Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. *Journal Of Animal Science*, 72, 236 - 246
- Beauchemin, K. & Penner, G. (2009). *New Developments in Understanding Ruminal Acidosis in Dairy Cows*. Paper gepresenteerd op Tri-State Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, 21 - 22 april 2009
- Beauchemin, K. A., Yang, W. Z. & Rode, M.L. (2003). Effects of particle size of alfalfabased dairy cow diets on chewing activity, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 86, 630 - 643
- Bonhomme, A. (1990). Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Animal Feed Science and Technology*, 30 (3-4), 203 - 266
- Brulc, J. M., Antonopoulos, D. A., Berg Miller, M. E., Wilson, M. K., Yannarell, A. C., Dinsdale, E. A. et al. (2009). Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (6), 1948 - 1953

- Cameron, R. E. B., Dyk, P. B., Herdt, T. H., Kaneene, J. B., Miller, R., Bucholtz, H. F. et al. (1998). NUTRITION, FEEDING, AND CALVES: Dry Cow Diet, Management, and Energy Balance as Risk Factors for Displaced Abomasum in High Producing Dairy Herds. *Journal of Dairy Science*, 81 (1), 132 - 139
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N. D. & Bach, A. (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal Feed Science and Technology*, 145 (1 - 4), 5 - 26. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.019
- Chiquette, J. (2009). Evaluation of the protective effect of probiotics fed to dairy cows during a subacute ruminal acidosis challenge. *Animal Feed Science and Technology*, 153 (3 - 4), 278 - 291. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2009.07.001
- Clapperton, J. L. & Czerkawski, J. W. (1972). Metabolism of propane-1 : 2-diol infused into the rumen of sheep. *British Journal of Nutrition*, 27 (3), 553 - 560
- Clayton, E. H., Lean, I. J., Rowe, J. B. & Cox, J. W. (1999). Effects of Feeding Virginiamycin and Sodium Bicarbonate to Grazing Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 82 (7), 1545 - 1554. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75382-8
- Clayton, R. A., Sutton, G., Hinkle, P. S., Bult, C. & Fields, C. (1995). Intraspecific Variation in Small-Subunit rRNA Sequences in GenBank: Why Single Sequences May Not Adequately Represent Prokaryotic Taxa. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45 (3), 595 - 599
- Cooper, R. J., Klopfenstein, T. J., Stock, R., Milton, C. T., Herold, D. W. & Parrott, J. C. (1999). Effects of Imposed Feed Intake Variation on Acidosis and Performance of Finishing Steers. *Journal of Animal Science*, 77, 1093 - 1099
- Correa, L. B., Zanetti, M. A., Netto, A. S., Del Claro, G. R., Paiva, F. A. & Martins, P. G. M. A. (2014). Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. *Livestock Science*, 169, 78 - 82. doi: 10.1016/j.livsci.2014.08.016
- Counotte, G. H. M., Prins, R. A., Janssen, R. H. A. M. & Debie, M. J. A. (1981). Role of *Megasphaera elsdenii* in the Fermentation of DL- [2-13C]lactate in the Rumen of Dairy Cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 42 (4), 649 - 655
- Cruywagen, C. W., Taylor, S., Beya, M. M. & Calitz, T. (2015). The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5506-5514. doi:10.3168/jds.2014-8875

- CR Delta (2001). Kengetallen E-4: Bedrijfsstandaardkoe (BSK). In *Handboek NRS*. Gevonden op het internet: <https://www.crv4all.be/wp-content/uploads/2014/08/Bedrijfsstandaardkoe-BSK.pdf>
- Danscher, A. M., Li, S., Andersen, P. H., Khafipour, E., Kristensen, N. B. & Plaizier, J. C. (2015). Indicators of induced subacute ruminal acidosis (SARA) in Danish Holstein cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57 (1), 39 - 52. doi:10.1186/s13028-015-0128-9
- Dehority, B. A. & Tirabasso, P. A. (2000). Antibiosis between Ruminant Bacteria and Ruminant Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (7), 2921 - 2927. doi:10.1128/AEM.66.7.2921-2927.2000
- Dehority, B. A. (2002). Gastrointestinal Tracts of Herbivores, Particularly the Ruminant: Anatomy, Physiology and Microbial Digestion of Plants. *Journal of Applied Animal Research*, 21 (2), 145 - 160. doi:10.1080/09712119.2002.9706367
- Demeyer, D. I. (1981). Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agriculture and Environment*, 6 (2-3), 295 - 337
- Denman, S. E., Nicholson, M. J., Brookman, J. L., Theodorou, M. K. & McSweeney, C. S. (2008). Detection and monitoring of anaerobic rumen fungi using an ARISA method. *Letters in Applied Microbiology*, 47 (6), 492 - 499
- Dirksen, G., Liebich, H. G. & Mayer, W. (1985). Adaptive changes of the ruminal mucosa and their function and clinical significance. *Bovine Practitioner*, 20, 831 - 832
- Duffield, T., Plaizier, J. C., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P. et al. (2004). Comparison of Techniques for Measurement of Rumen pH in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87 (1), 59 - 66. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73142-2
- Eadie, J. M. (1967). Studies on the Ecology of Certain Rumen Ciliate Protozoa. *Journal of General Microbiology*, 49 (2), 175 - 194
- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. & Webster, G. (1989). A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 72 (1), 68 - 78. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0
- Edwards, J. E., Huws, S. A., Kim, E. J., Lee, M. R. F., Kingston-Smith, A. H. & Scollan, N. D. (2008). Advances in microbial ecosystem concepts and their consequences for ruminant agriculture. *Animal*, 2 (5), 653 - 660. doi:10.1017/S1751731108002164
- Edwards, J. E., McEwan, N. R., Travis, A. J. & Wallace, R. J. (2004). 16S rDNA library-based analysis of ruminal bacterial diversity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86 (3), 263 - 281

Elanco Animal Health (2009). Body Condition Scoring in Dairy Cattle. Gevonden op het internet: <http://www.caes.uga.edu/commodities/fieldcrops/forages/events/PBDSummit/!A110782BCSCowAPPROVED.pdf>

Emery, R. S., Brown, L. D. & Thomas, J. W. (1964). Effect of Sodium and Calcium Carbonates on Milk Production and Composition of Milk, Blood, and Rumen Contents of Cows Fed Grain Ad Libitum with Restricted Roughage. *Journal of Dairy Science*, 47 (12), 1325 - 1329. doi:10.3168/jds.S0022-0302(64)88913-X

Emery, R. S., Brown, R. E. & Black, L. (1967). Metabolism of DL-1,2-Propanediol-2-¹⁴C in a Lactating Cow. *Journal of Nutrition*, 92 (3), 348 - 356

Enemark, J. M. D., Jørgensen, R. J. & Kristensen, N. B. (2004). An Evaluation of Parameters for the Detection of Subclinical Rumen Acidosis in Dairy Herds. *Veterinary Research Communications*, 28 (8), 687 - 709. doi: 10.1023/B:VERC.0000045949.31499.20

Enemark, J. M. D. (2009). The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *The Veterinary Journal*, 176 (1), 32 - 43. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.021

Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. (2001). Ketone Bodies in Milk and Blood of Dairy Cows: Relationship between Concentrations and Utilization for Detection of Subclinical Ketosis. *American Dairy Science Association*, 84, 583 - 589

Erdman, R. A., Botts, R. L., Hemken, R. W. & Bull, L. S. (1980). Effect of Dietary Sodium Bicarbonate and Magnesium Oxide on Production and Physiology in Early Lactation. *Journal of Dairy Science*, 63 (6), 923 - 930. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(80)83027-X

Erdman, R. A., Douglass, L. W., Hemken, R. W. & Mann, L. M. (1982). Effects of Sodium Bicarbonate on Palatability and Voluntary Intake of Concentrates Fed Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 65 (8), 1647 - 1651. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82392-8

Erdman, R. A., Hemken, R. W. & Bull, L. S. (1982). Dietary Sodium Bicarbonate and Magnesium Oxide for Early Postpartum Lactating Dairy Cows: Effects of Production, Acid-Based Metabolism, and Digestion. *Journal of Dairy Science*, 65 (5), 712 - 731. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82259-5

Erdman, R. A. (1988). Dietary Buffering Requirements of the Lactating Dairy Cow: A Review. *Journal of Dairy Science*, 71 (12), 3246 - 3266. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79930-0

Fairfield, A. M., Plaizier, J. C., Duffield, T. F., Lindinger, M. I., Bagg, R., Dick, P. & McBride, B. W. (2007). Effects of prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92 (2), 937 - 945. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71577-1

- Fecteau, G. & George, L. W. (2008). Mentation Abnormality, Depression, and Cortical Blindness. In Anderson, D. E. & Rings, D. M. (Eds.). *Food Animal Practice* (Vol. 5, pp. 307 - 311). Missouri: Elsevier Health Sciences.
- Fernando, S. C., Purvis II, H. T., Najjar, F. Z., Sukharnikov, L. O., Krehbiel, C. R., Nagaraja, T. G. et al. (2010). Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (22), 7482 - 7490. doi:10.1128/AEM.00388-10
- Flint, J. H., (1997). The rumen microbial ecosystem - some recent developments. *Trends in Microbiology*, 5 (12), 483 - 488
- Flint, H. J., Bayer, E. A., Rincon, M. T., Lamed, R. & White, B. A. (2008). Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nature reviews Microbiology*, 6, 121 -131
- Gianesella, M., Morgante, M., Stelletta, C., Ravarotto, L., Giudice, E. & Van Saun, R. J. (2010). Evaluating the Effects of Rumenocentesis on Health and Performance in Dairy Cows. *Acta Veterinaria Brno*, 79 (3), 459 - 468. doi:10.2754/avb201079030459
- González, L. A., Manteca, X., Calsamiglia, S., Schwartzkopf-Genswein, K. S. & Ferret, A. (2012). Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review), *Animal Feed Science and Technology*, 172, 66 - 79
- Gordon, J. L., LeBlanc, S. J. & Duffield, T. F. (2013). Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 29 (2), 433 - 445
- Gordon, G. L. R. & Phillips, M. W. (1998). The role of anaerobic gut fungi in ruminants. *Nutrition Research Reviews*, 11 (1), 133 - 168
- Gozho, G.N., Krause, D.O. & Plaizier, J.C. (2007). Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 856 - 866
- Hackstein, J. H. P., Vogels, G. D. (1997). Endosymbiotic interactions in anaerobic protozoa. *Antonie van Leeuwenhoek*, 71 (1 - 2), 151 - 158
- Hall, M. B. (2002). Characteristics of Manure: What Do They Mean? *Proceedings Tri-State Dairy Nutrition Conference*, 141 - 147
- Herd, T. H. & Emery, R. S. (1992). Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 8 (1), 91 - 106

Herdt, T. H. & Gerloff, B. J. (2008). Ketosis. In Anderson, D. E. & Rings, D. M. (Eds.). *Food Animal Practice* (Vol. 5, pp. 141 - 144). Missouri: Elsevier Health Sciences.

Hu, W., Murphy M. R. (2005). Statistical evaluation of early- and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. *Animal Feed Science and Technology*, 119 (1-2), 43 - 54. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.12.005

Huber, T. L. (1976). Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 43 (4), 902 - 909. doi:10.2134/jas1976.434902x

Hulsen, J. & Aerden, D. (2013). Voersignalen: *Praktijkgids voor het gezond voeren van melkkoeien*. Zuthpen (Nederland): Roodbont publishers.

Hungate, R. E. (1966). *The Rumen and Its Microbes*. New York: Academic Press. https://books.google.be/books?id=TK_SBAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=nl#v=onepage&q&f=false

Ingvartsen, K. L. (2006). Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 175 - 213

Ireland-Perry, R. L. & Stallings, C. C. (1993). Fecal Consistency as Related to Dietary Composition in Lactating Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, 76 (4), 1074 - 1082. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77436-6

Itle, A. J., Huzzey, J. M., Weary, D. M. & von Keyserlingk, M. A. G. (2015). Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. *Journal of Dairy Science*, 98 (1), 128 - 134. doi:10.3168/jds.2014-7932

Jami, E. & Mizrahi, I. (2012). Composition and Similarity of Bovine Rumen Microbiota across Individual Animals. *Plos One*, 7(3), 1 - 8

Janssen, P. H. & Kirs, M. (2008). Structure of the Archaeal Community of the Rumen. *Environmental Microbiology*, 74 (12), 3619 - 3625

Jarvis, G. N., Strömpl, C., Burgess, D. M., Skillman, L. C., Moore, E. R. B., Joblin, K. N. (2000). Isolation and identification of ruminal methanogens from grazing cattle. *Current Microbiology*, 40 (5), 327 - 332. doi:10.1007/s002849910065

Joblin, K. N., Naylor, G. E., Williams, A. G. (1990). Effect of *Methanobrevibacter smithii* on xylanolytic activity of anaerobic ruminal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (8), 2287 - 2295

- Kamra, D. N. (2005). Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, 89 (1), 124 - 135
- Kersting, K. W., Thompson, J. R. & Connolly, M. J. (2008). Ruminal Acidosis and Rumenitis. In Anderson, D. E. & Rings, D. M. (Eds.). *Food Animal Practice* (Vol. 5, pp. 23 - 27). Missouri: Elsevier Health Sciences
- Keunen, J. E., Plaizier, J. C., Kyriazakis, I., Duffield, T. F., Widowskie, T. M., Lindinger, M. I & McBride, B. W. (2003). Short Communication: Effects of Subacute Ruminal Acidosis on Free-Choice Intake of Sodium Bicarbonate in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 86 (3), 954 - 957. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73678-9
- Kim, M., Morrison, M. & Yu, Z. (2011). Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes. *FEMS Microbiology Ecology*, 76 (1), 49 - 63. doi:10.1111/j.1574-6941.2010.01029.x
- Kleen, J. L., Hooijer, G. A., Rehage, J. & Noordhuizen, J. P. T. M. (2003). Subacute Ruminal Acidosis (SARA): a Review. *Journal of Veterinary Medicine*, 50 (8), 406 - 414. doi: 10.1046/j.1439-0442.2003.00569.x
- Kleen, J. L., Hooijer, G. A., Rehage, J. & Noordhuizen, J. P. T. M. (2009). Subacute ruminal acidosis in Dutch dairy herds. *Veterinary Record*, 164 (22), 681 - 683. doi:10.1136/vr.164.22.681
- Kocherginskaya, S. A., Aminov, R. I. & White, B. A. (2001). Analysis of the rumen bacterial diversity under two different diet conditions using denaturing gradient gel electrophoresis, random sequencing, and statistical ecology approaches. *Anaerobe*, 7 (3), 119 - 134
- Krause, K. M., Dhuyvetter, D. V. & Oetzel, G. R. (2009). Effect of a low-moisture buffer block on ruminal pH in lactating dairy cattle induced with subacute ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science*, 92 (1), 352 - 364. doi: 10.3168/jds.2007-0959
- Krause, K. M. & Oetzel, G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review, *Animal Feed Science and Technology*, 126, 215 - 236
- Laffel, L. (1999). Ketone Bodies: a Review of Physiology, Pathophysiology and Application of Monitoring to Diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 15 (6), 412 - 426. doi:10.1002/(SICI)1520-7560(199911/12)15:63.0.CO;2-8
- Lawrence, D. C., O'Donovan, M., Boland, T. M., Lewis, E. & Kennedy, E. (2015). The effect of concentrate feeding amount and feeding strategy on milk production, dry matter intake, and energy partitioning of autumn-calving Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 98 (1), 338 - 348. doi:10.3168/jds.2014-7905
- Lean, I. J., Golder, H. M. & Hall, M. B. (2014). Feeding, Evaluating, and Controlling Rumen Function. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30 (3), 539 - 575

- Li, S., Gozho, G. N., Gakhar, N., Khafipour, E., Krause, D. O. & Plaizier, J. C. (2012). Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 92 (3), 353 - 364. doi:10.4141/CJAS2012-004
- Li, M., Penner, G. B., Hernandez-Sanabria, E., Oba, M. & Guan, L. L. (2009). Effects of sampling location and time, and host animal on assessment of bacterial diversity and fermentation parameters in the bovine rumen. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1924 - 1934
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A. & Clark, D. P. (2012). *Brock: Biology of Microorganisms (Thirteenth Edition)*. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Mao, S. Y., Zhang, R. Y., Wang, D. S. & Zhu, W. Y. (2013). Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing. *Anaerobe*, 24, 12 - 19
- Marden, J. P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. & Bayourthe, C. (2008). How Does Live Yeast Differ from Sodium Bicarbonate to Stabilize Ruminal pH in High-Yielding Dairy Cows? *Journal of Dairy Science*, 91 (9), 3528 - 3535. doi: 10.3168/jds.2007-0889
- Margherita, S. S. & Hungate, R. E. (1963). Serological analysis of *Butyrivibrio* from the bovine rumen. *Journal of Bacteriology*, 86 (4), 855 - 860
- Margherita, S. S., Hungate, R. E. & Storz, H. (1964). Variation in rumen *Butyrivibrio* strains. *Journal of Bacteriology*, 87 (6), 1304 - 1308
- Maulfair, D. D., McIntyre, K. K. & Heinrichs, A. J. (2013). Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96 (10), 6610 - 6620. doi:10.3168/jds.2013-6771
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V. & Oetzel, G. R. (2012). Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95 (9), 5056 - 5066
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V., Ospina, P. A. & Oetzel, G. R. (2011). A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 94, 6011 - 6020. doi:10.3168/jds.2011-4463
- Meissner, H. H., Henning, P. H., Horn, C. H., Leeuw, K-J., Hagg, F. M. & Fouché, G. (2010). Ruminal acidosis: A review with detailed reference to the controlling agent *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125, *South African Journal of Animal Science*, 40 (2), <http://www.sasas.co.za/sajas.asp>
- Miller, R. W., Hemken, R. W. (1965). Effect of Feeding Buffers to Dairy Cows Fed a High-Concentrate, Low-Roughage Ration. *Journal of Dairy Science*, 48 (11), 1455 - 1458. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(65)88498-3

- Miyoshi, S., Pate, J. L. & Palmquist, D. L. (2001). Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 68 (1 - 2), 29 - 43. doi:10.1016/S0378-4320(01)00137-3
- Mizrahi, I. (2013). Rumen symbioses. *The Prokaryotes: Prokaryotic Biology and Symbiotic Associations* (4, p. 533 - 544). New Delhi: Springer Reference. <http://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-30194-0>
- Morgante, M., Gianesella, M., Casella, S., Ravarotto, L., Stelletta, C. & Giudice, E. (2009). Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. *Comparative Clinical Pathology*, 18 (3), 229 - 232. doi: 10.1007/s00580-008-0793-4
- Morgante, M., Stelletta, C., Berzaghi, M., Gianesella, M. & Andrighetto, I. (2007). Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 91 (5 - 6), 226 - 234. doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00696.x
- Murondoti, A., Jorritsma, R., Beynen, A. C., Wensing, T. & Geelen, M. J. H. (2004) Activities of the enzymes of hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows with induced fatty liver. *Journal of Dairy Research*, 71 (2), 129 - 134. doi:10.1017/S0022029904000020
- Nagaraja, T. G. & Lechtenberg, K. F. (2007). Acidosis in Feedlot Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23 (2), 333 - 350. doi:10.1016/j.cvfa.2007.04.002
- Nagaraja, T. G. & Titgemeyer, E. C. (2007). Ruminant Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook, *Journal of Dairy Science*, 90 (E. suppl.), E17 - E38. doi:10.3168/jds.2006-478
- Neves, M. de C., Kishi, L. T., Alves, E. C. da C., Ezequiel, J. M. B. & Lemos, M. V. F. (2010). Phylogenetic diversity of methanogenic archaea in diets with different hay proportions. *Revista de Ciências Agrárias*, 33 (2), 160 - 169
- Nielsen, B. L. (1999). On the interpretation of feeding behaviour measures and the use of feeding rate as an indicator of social constraint. *Applied Animal Behaviour Science*, 63, 79 - 91
- Nielsen, N. I. & Ingvarsen, K. L. (2004). Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology*, 115 (3 - 4), 191 - 213. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.03.008
- Nocek, J. E. (1997). Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80 (5), 1005 - 1028. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76026-0

Nordlund, K. V., Garrett, E. F., Oetzel, G. R. (1995). Herd-based rumenocentesis - a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compendium om continuing education for the practicing veterinarian*, 17 (8), S48 - S56.

Nordlund, K. (2003). *Herd-based diagnosis of subacute ruminal acidosis*. Paper gepresenteerd op Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies, Columbus, 15 - 17 september 2003

National Research Council (2001). Dry Matter Intake. In *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (Seventh Revised Edition, p. 3 - 12). Washington: National Academy Press. Gevonden op het internet: profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf

Oetzel, G. R. (2003). Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cattle. *Advances in Dairy Technology*, 15, 307 - 317

Oetzel, G. R. (2007). Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Herds: Physiology, Pathophysiology, Milk Fat Responses, and Nutritional Management. *American Association of Bovine Practitioners 40th Annual Conference*, 89-119

Orpin, C. G. (1975). Studies on the Rumen Flagellate *Neocallimastix frontalis*. *Journal of General Microbiology*, 91 (2), 249 - 262. doi:10.1099/00221287-91-2-249

Orpin, C. G. (1977). The Rumen Flagellate *Pirimonas communis* : Its Life-history and Invasion of Plant Material in the Rumen. *Journal of General Microbiology*, 99 (1), 107 - 117. doi:10.1099/00221287-99-1-107

Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J. & Gill, D. R. (1998). Acidosis in Cattle: A Review. *Journal of Animal Science*, 76, 275 - 286

Paton, L. J., Beauchemin, K. A., Veira, D. M. & von Keyserlingk, M. A. G. (2006). Use of sodium bicarbonate, offered free choice or blended into the ration, to reduce the risk of ruminal acidosis in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 86 (3), 429 - 437. doi:10.4141/A06-014

Pennsylvania State University (2004, 1 juli). *Learn to Score Body Condition Step by Step*. PowerPoint-presentatie, gevonden op het internet: <http://www.slideshare.net/jonescoleen/learn-to-score-body-condition-for-dairy-cows>

Pers-Kamczyc, E., Zmora, P., Cieślak, A. & Szumacher-Strabel, M. (2011). Development of nucleic acid based techniques and possibilities of their application to rumen microbial ecology research. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20, 315 - 337

- Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N. & McBride, B. W. (2009). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal*, 176, 21 - 31
- Pond, K. R., Ellis, W. C. & Akin, D. E. (1984). Ingestive mastication and fragmentation of forages. *Journal Of Animal Science*, 58 (6), 1567 - 1574
- Reynolds, C. K., Dürst, B., Lupoli, B., Humphries, D. J. & Beever, D. E. (2004). Visceral Tissue Mass and Rumen Volume in Dairy Cows During the Transition from Late Gestation tot Early Lactation. *Journal of Dairy Science*, 87 (4), 961 - 971. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73240-3
- Roche, A. D., Bell, A. W., Overton, T. R. & Loor, J. J. (2013). Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. *Animal Production Science*, 53, 1000 - 1023. doi:10.1071/AN12293
- Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J. & Berry, D. P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92 (12), 5769 - 5801. doi: 10.3168/jds.2009-2431
- Rogers , J. A., Muller, L. D., Davis, C. L., Chalupa, W., Kronfeld, D. S., Karcher, L. F. & Cummings, K. R. (1985). Response of Dairy Cows to Sodium Bicarbonate and Limestone in Early Lactation. *Journal of Dairy Science*, 68 (3), 646 - 660. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80871-7
- Russel, J. B. & Chow, J. M. (1993). Another theory for the action of ruminal buffer salts: Decreased starch fermentation and propionate production. *Journal of Dairy Science*, 76 (3), 826 - 830. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77407-X
- Russel, J. B. & Rychlik, J. L. (2001). Factors That Alter Rumen Microbial Ecology. *Science*, 292 (5519), 1119 - 1122. doi:10.1126/science.1058830
- Santos, K. A., Stern, M. D. & Satter, L. D. (1984). Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactating dairy cattle fed various protein sources. *Journal of Animal Science*, 58 (1), 244 - 255
- Sauer, F. D., Erfle, J. D. & Fisher, L. J. (1973). Propylene glycol and glycerol as feed additive for lactation dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. *Canadian Journal of Animal Science*, 53 (2), 265 - 271. doi:10.4141/cjas73-042
- Schäff, C., Börner, S., Hacke, S., Kautzsch, U., Sauerwein, H., Spachmann, S. K. et al. (2013). Increased muscle fatty acid oxidation in dairy cows with intensive body fat mobilization during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 96 (10), 6449 - 6460

- Senthilkumar, V., Safiullah, A. M., Kathiravan, G., Subramanian, M. & Mani, K. (2013). Economic Analysis of Metabolic Diseases in Bovines: A Review. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, 2 (1), 64 - 71
- Serbester, U., Çinar, M. & Hayirli, A. (2012). Negative Energy Balance in Dairy Cattle and Its Metabolic Indicators. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (4), 705 - 711
- Sirohi, S. K., Pandey, N., Singh, B. & Puniya, A. K. (2010). Rumen methanogens: a review. *Indian Journal of Microbiology*, 50 (3), 253 - 262. doi:10.1007/s12088-010-0061-6
- Solorzano, L. C., Armentano, L. E., Grummer, R. R. & Dentine, M. R. (1989). Effects of Sodium Bicarbonate or Sodium Sesquicarbonate on Lactating Holsteins Fed a High Grain Diet. *Journal of Dairy Science*, 72 (2), 453 - 461. doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79127-X
- Stams, A. J. & Plugge, C. M. (2009). Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nature Reviews. Microbiology*, 7 (8), 568 - 577. doi:10.1038/nrmicro2166.
- Stokes, M. R., Vandemark, L. L., Bull, L. S. (1986). Effects of Sodium Bicarbonate, Magnesium Oxide, and a Commercial Buffer Mixture in Early Lactation Cows Fed Hay Crop Silage. *Journal of Dairy Science*, 69 (6), 1595 - 1603. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80576-8
- Stone, W. C. (2004). Nutritional Approaches to Minimize Subacute Ruminal Acidosis and Laminitis in Dairy Cattle. *American Dairy Science Association*, 87, E13 - E26
- Studer, V. A., Grummer, R. R. & Bertics, S. (1993). Effect of Prepartum Propylene Glycol Administration on Periparturient Fatty Liver In Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 76 (10), 2931 - 2939. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77633-X
- Stumm, C. K., Gijzen, H. J. & Vogels, G. D. (1982). Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. *British Journal of Nutrition*, 47 (1), 95 - 99
- Sumner, J. M. & McNamara, J. P. (2007). Expression of Lipolytic Genes in the Adipose Tissue of Pregnant and Lactating Holstein Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 90 (11), 5237 - 5246. doi: 10.3168/jds.2007-0307
- Tajik, J., Nadalian, M. G., Raoofifi, A., Mohammadi, G. R. & Bahonar, A. R. (2011). Evaluation of rumenocentesis practicability as a routine diagnostic technique in veterinary practice. *Veterinarski Archiv*, 81 (5), 557 - 561
- Thomas, J. W., Emery, R. S., Breaux, J. K. & Liesman, J. S. (1984). Response of Milking Cows Fed a High Concentrate, Low Roughage Diet Plus Sodium Bicarbonate, Magnesium Oxide, or Magnesium Hydroxide. *Journal of Dairy Science*, 67 (11), 2532 - 2545. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81610-0

- Trinci, A. P. J., Davies, D. R., Gull, K., Lawrence, M. I., Nielsen, B. B., Rickers, A.G., et al. (1994). Anaerobic fungi in herbivorous animals. *Mycological Research*, 98 (2), 129 - 152
- Van Amstel, S. R. (2008). Noninfectious Disorders of the Foot. In Anderson, D. E. & Rings, D. M. (Eds.). *Food Animal Practice* (Vol. 5, pp. 222 - 234). Missouri: Elsevier Health Sciences
- Vogels, G. D., Hoppe, W. F. & Stumm, C. K. (1980). Association of Methagenic Bacteria with Rumen Ciliates. *Applied and Environmental Microbiology*, 40 (3), 680 - 612
- Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E. & Boman, R. L. (1982). A Dairy Cow Body Condition Scoring System and Its Relationship to Selected Production Characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65 (3), 495 - 501. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82223-6
- Wilkinson, J. M. (2004). Nutrition. In Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H. & Eddy, R. G. (Eds.) *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle* (Second edition, p. 95 - 122). Blackwell Publishing Science Ltd. Gevonden op het internet: <http://vet.uokufa.edu.iq/staff/nabeelahmed/resarches/Bovine%20Medicine%20Diseases%20and%20Husbandry%20of%20Cattle.pdf>
- Williams, A. G. (1986). Rumen Holotrich Ciliate Protozoa. *Microbiological Reviews*, 50 (1), 25 - 49
- Williams, A. G., Coleman, G. S. (1992). *The rumen protozoa*. New York: Springer-Verlag. https://books.google.be/books?id=2z_TBwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=nl#v=onepage&q&f=false
- Yun, S. K. & Han, J. D. (1989). Effect of feeding frequency of concentrate to milking cows in early lactation on pH and VFA-concentration in rumen fluid and on milk composition and milk yield. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2, 418 - 420.
- Zebeli, Q., Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, H., Ametaj, B.N. & Drochner, W. (2008). Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *Journal of Dairy Science*, 91, 2046 - 2066
- Zebeli, Q. & Metzler-Zebeli., B. U. (2012). Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, 93, 1099 - 1018
- Zhang, Z., Liu, G., Wang, H., Li, X. & Wang, Z. (2012). Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Pakistan Veterinary Journal*, 32 (2), 156 - 160

BIJLAGEN

Bijlage I: Enkele pensorganismen, gesorteerd op basis van het substraat dat ze gebruiken. (Kamra, 2005)

	Substraat	Organisme
Koolhydraatverterende bacteriën	Cellulose	<i>Fibrobacter succinogenes</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Clostridium cellobioparum</i> <i>Clostridium longisporum</i> <i>Clostridium lochheadii</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i>
	Hemicellulose	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Eubacterium xylanophilum</i> <i>E. uniformis</i>
	Zetmeel	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i> <i>Prevotella ruminicola</i>
	Suikers, dextrines	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Succinivibrio amylolytica</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. helveticus</i> <i>Bifidobacterium globosum</i> <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilum</i> <i>B. ruminale</i> , <i>B. ruminantium</i>
	Pectine	<i>Treponema saccharophilum</i> <i>Lachnospira multiparus</i>
Zuurverbruikende bacteriën		<i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Wollinella succinogenes</i> <i>Veillonella gazogenes</i> <i>Oxalobacter formigenes</i> <i>Desulphovibrio desulphuricans</i> <i>Desulphatamaculum ruminis</i> <i>Succiniclasticum ruminis</i>
Methanogene archaea		<i>Methanobrevibacter ruminantium</i> <i>Methanobacterium formicicum</i> <i>Methanosarcina barkeri</i> <i>Methanomicrobium mobile</i>

Bijlage II: Tijdlijn proef. De kleur van de dag geeft de proefperiode aan waartoe de dag behoort: groen voor de prebicarbonaatperiode, paars voor de bicarbonaatperiode en blauw voor de postbicarbonaatperiode. Overgangsdagen zijn gearceerd.

Week 1						
Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5	Dag 6	Dag 7
Bolussen in brengen						
BCS						
Wegen						
MPR						

Week 2						
Dag 8	Dag 9	Dag 10	Dag 11	Dag 12	Dag 13	Dag 14
BCS						
Meststalen						

Week 3						
Dag 15	Dag 16	Dag 17	Dag 18	Dag 19	Dag 20	Dag 21
BCS						
MPR						
Start bicarbonaatgift						
Beelden voeropname						

Week 4						
Dag 22	Dag 23	Dag 24	Dag 25	Dag 26	Dag 27	Dag 28
BCS						
Beelden voeropname						

Week 5						
Dag 29	Dag 30	Dag 31	Dag 32	Dag 33	Dag 34	Dag 35
BCS						
Beelden voeropname						

Week 6						
Dag 36	Dag 37	Dag 38	Dag 39	Dag 40	Dag 41	Dag 42
BCS						
Meststalen						

Week 7						
Dag 43	Dag 44	Dag 45	Dag 46	Dag 47	Dag 48	Dag 49
BCS						

Week 8						
Dag 50	Dag 51	Dag 52	Dag 53	Dag 54	Dag 55	Dag 56
BCS		Meststalen	Wegen	Stop bicarbonaatgift		
		MPR				

Week 9						
Dag 57	Dag 58	Dag 59	Dag 60	Dag 61	Dag 62	Dag 63
BCS						

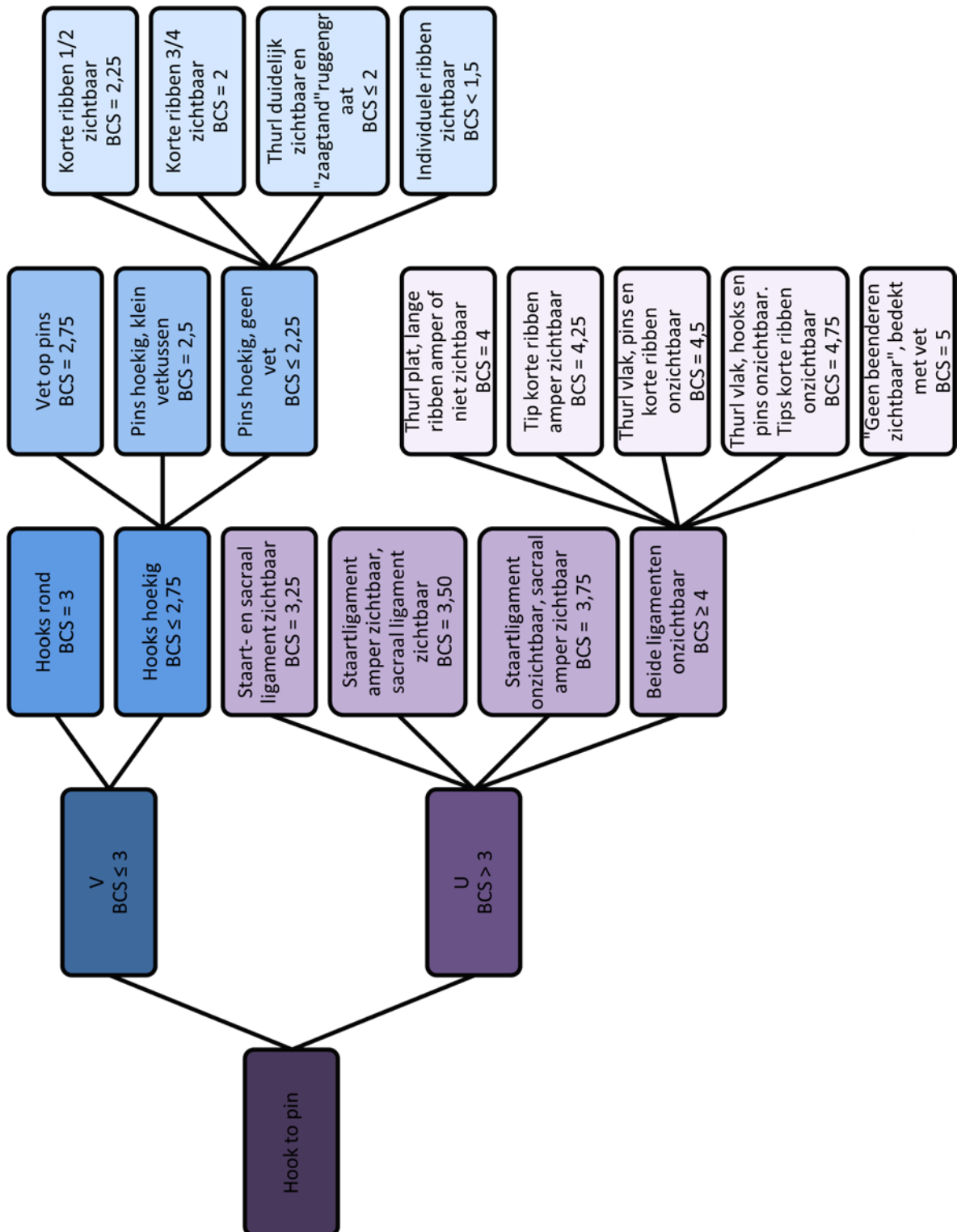
Week 10						
Dag 64	Dag 65	Dag 66	Dag 67	Dag 68	Dag 69	Dag 70
BCS						

Week 11						
Dag 71	Dag 72	Dag 73	Dag 74	Dag 75	Dag 76	Dag 77
BCS					MPR	
Meststalen						
Wegen						

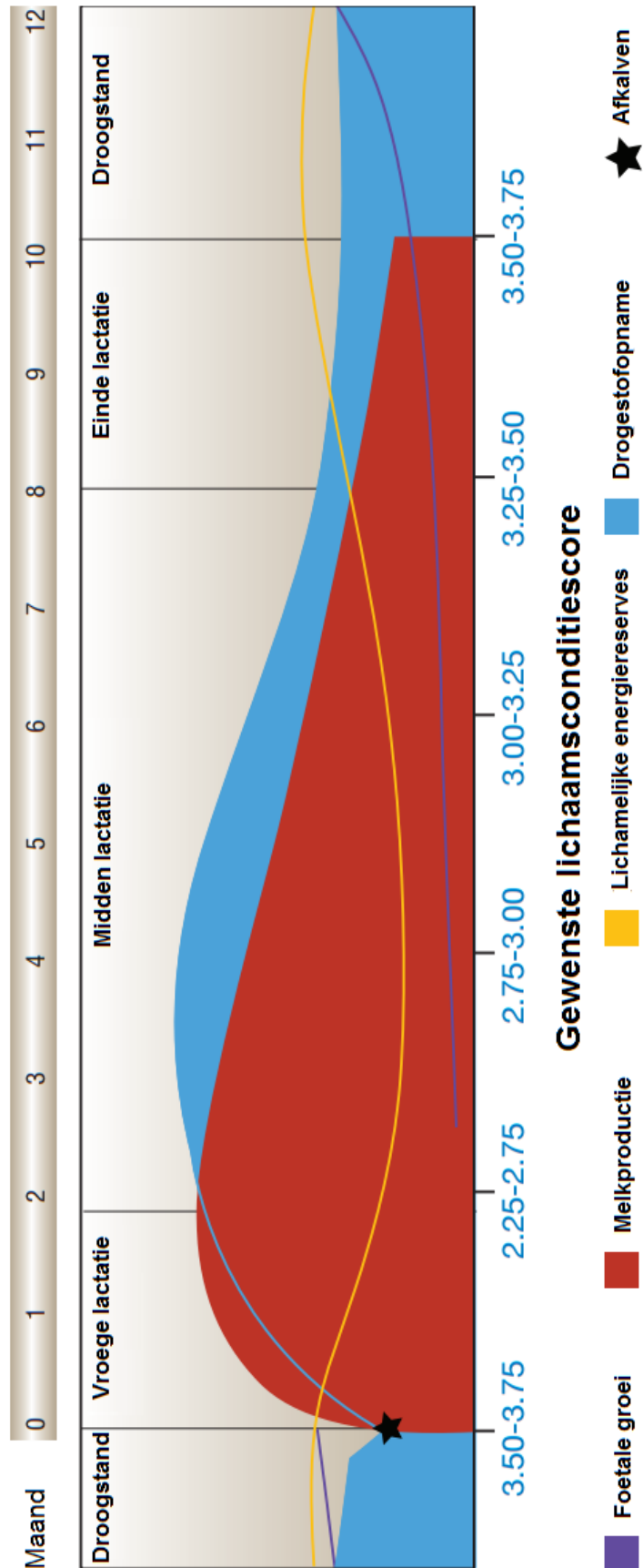
Bijlage III: Hulptabel bij toekennen BCS volgens Edmonson et al. (1989)

SCORE	Spinous processes (SP) (anatomy varies)	Spinous to Transverse processes	Transverse processes	Overhanging shelf (care - rumen fill)	Tuber coxae (hooks) & Tuber ischia (pins)	Between pins and hooks	Between the hooks	Tailhead to pins (anatomy varies)
1.00	individual processes distinct, giving a saw-tooth appearance	deep depression	very prominent, > 1/2 length visible	definite shelf, gaunt, tucked	extremely sharp, no tissue cover	severe depression, devoid of flesh	severely depressed	bones very prominent with deep "V" shaped cavity under tail
1.25								
1.50			1/2 length of process visible					
1.75			between 1/2 to 1/3 of processes visible					
2.00	individual processes evident	obvious depression		prominent shelf	prominent	very sunken		bones prominent "U" shaped cavity formed under tail
2.25								first evidence of fat
2.50	sharp, prominent ridge		1/3 - 1/4 visible			thin flesh covering		
2.75			< 1/4 visible	slight shelf	smooth	depression		bones smooth, cavity under tail shallow & fatty tissue lined
3.00		smooth concave curve						
3.25			appears smooth, TP's just discernable					
3.50	smooth ridge, the SP's not evident	smooth slope	distinct ridge, no individual processes discernable		covered	slight depression		
3.75			smooth, rounded edge	none	rounded with fat	sloping		bones rounded with fat and slight fat-filled depression under tail
4.00	flat, no processes discernable	nearly flat				flat		
4.25			edge barely discernable		buried in fat			bones buried in fat, cavity filled with fat forming tissue folds
4.50								
4.75			buried in fat	bulging		rounded		
5.00		rounded (convex)						
	SEVERE UNDERCONDITIONING (emaciated)							
	FRAME OBVIOUS							
	FRAME & COVERING WELL BALANCED							
	FRAME NOT AS VISIBLE AS COVERING							
	SEVERE OVERCONDITIONING							

Bijlage IV: Beslissingsboom voor het toekennen van BCS aan Holsteinkoeien. Gebaseerd op de methode van Elanco Animal Health (1997) en Pennsylvania State University (2004).



Bijlage V: Gewenste lichaamsconditiescore doorheen de lactatie.
 Figuur overgenomen van Elanco Animal Health (1997).



FACULTEIT INDUSTRIËLE INGENIEURSWETENSCHAPPEN
TECHNOLOGIECAMPUS GEEL
Kleinhoefstraat 4
2440 GEEL, België
tel. + 32 14 80 22 40
iiw.geel@kuleuven.be
iiw.kuleuven.be



LID VAN **ASSOCIATIE
KU LEUVEN**