



Het effect van lichtkleur en lichtduur
op melkproductie en gedrag van melkvee



Colofon

Uitgever

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail info.livestockresearch@wur.nl
Internet <http://www.livestockresearch.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Copyright

© Leids Universitair Medisch Centrum en
Wageningen UR Livestock Research, 2012
Overname van de inhoud is toegestaan,
mits met duidelijke bronvermelding.

Aansprakelijkheid

Wageningen UR Livestock Research (formeel ASG
Veehouderij BV) aanvaardt geen aansprakelijkheid voor
eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de
resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de
adviezen.

Wageningen UR Livestock Research, formeel 'ASG
Veehouderij BV', vormt samen met het Centraal
Veterinair Instituut en het Departement
Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit de
Animal Sciences Group van Wageningen UR.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door
DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau.
Op al onze onderzoeksoopdrachten zijn
de Algemene Voorwaarden van de
Animal Sciences Group van toepassing.

Abstract

This study investigated whether extending the natural photoperiod with different colours of artificial light influences the biological clock and body functions of dairy cows. This study shows that the biological clock of dairy cows is relatively insensitive to red light. In comparison with red artificial light, photoperiod extensions with other light colours have differential effects on the dairy cow.

Keywords

Dairy cows, photoperiod, light spectrum, biological clock, milk production, welfare, condition, behaviour, melatonin, hormones

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteur(s)

F. van Oosterhout
G. Biewenga
A. Winkel
W. Ouweltjes
J.H. Meijer

Titel

Het effect van lichtkleur en lichtduur op
melkproductie en gedrag van melkvee

Rapport 652

Samenvatting

In deze studie is onderzocht of het verlengen van de natuurlijke daglengte met verschillende kleuren kunstlicht van invloed is op de biologische klok en het functioneren van de melkkoe. Uit deze studie blijkt dat de biologische klok van de melkkoe relatief ongevoelig is voor rood licht. Ten opzichte van rood kunstlicht, hebben daglengte verlengingen met andere kleuren licht verschillende effecten op de koe.

Trefwoorden

Rundvee, lichtduur, lichtkleur, biologische klok, melkproductie, welzijn, conditie, gedrag, melatonine, hormoonprofielen.

Rapport 652

Het effect van lichtkleur en lichtduur op melkproductie en gedrag van melkvee

The effect of light colour and photoperiod on milk production and behaviour of dairy cows

F. van Oosterhout, G. Biewenga, A. Winkel, W. Ouweltjes, J. H. Meijer

November 2012

SAMENVATTING

Een adequaat lichtbeleid in de melkveestal is van belang voor een goed functionerende biologische klok van de melkkoe. De biologische klok, gevormd door een groep cellen in de hersenen, zorgt ervoor dat zoogdieren, waaronder melkkoeien, zich kunnen aanpassen aan het dag-nacht ritme op aarde. Tevens is de klok van belang voor de anticipatie van gedrags- en fysiologische processen, zoals voortplanting en melkproductie, op het ritme van de seizoenen. Het functioneren van de biologische klok staat onder invloed van daglengte, lichtintensiteit en lichtkleur. Dit project had als doel vast te stellen of een verlenging van de daglengte met gekleurd kunstlicht van invloed is op de melkproductie, gedrag, conditie en hormoonprofielen van melkkoeien, hetgeen internationaal nog niet eerder onderwerp van studie is geweest.

De lichtproef werd uitgevoerd op Melkveeproefbedrijf Nij Bosma Zathe van Wageningen UR Livestock Research te Leeuwarden (thans: Dairy Campus) tijdens de wintermaanden. Na een basisperiode van zeven weken korte dag ("winterdag"; 8 uur licht, 16 uur donker) werd de natuurlijke daglengte gedurende zestien weken in de ochtend- en avonduren verlengd met artificieel gekleurd licht tot een lange dag ("zomerdag"; 16 uur licht, 8 uur donker). De melkkoeien, verdeeld in vier groepen met zestien koeien per groep, ontvingen per groep één van de volgende proefbehandelingen: verlenging van de korte dag met blauw licht; geel licht; rood licht; of wit licht (middels een combinatie van blauw, geel en rood licht). De gekleurde kunstverlichting bestond uit monochromatische LED lampen, waarbij de aangeboden lichtkleur was afgestemd op de spectrale gevoeligheden van de oogpigmenten van de koe.

Uit de onderzoeksresultaten blijkt dat een verlenging van de daglengte met wit licht, evenals met blauw licht, heeft geleid tot een toename van de gedragsactiviteit van de runderen in de avonduren. Ook de concentraties van het hormoon melatonine in het bloed vertoonden een aanpassing aan de lange dag in de wit-licht behandelgroep. Een overeenkomstig effect op het melatonine profiel was meetbaar wanneer de dag verlengd werd met blauw licht of geel licht, maar niet met rood licht. Hoewel uit deze resultaten blijkt dat gedrag en fysiologie van de koe worden beïnvloed door de artificiële 'zomerdag' indien deze is gerealiseerd middels verlenging met korte golflengten, leidde de lange dag niet tot statistisch significante veranderingen in de melkproductie. Wel was de tendens dat de persistentie het laagst was in de rood licht groep, echter deze tendens was niet statistisch significant. Verder is gevonden dat het eiwitgehalte van de melk gedurende de proefbehandeling significant achterbleef onder verlenging van de daglengte met rood licht in vergelijking met de andere proefbehandelingen. Wat betreft de vet-, lactose- en ureumgehalten was de samenstelling van de melk gelijk in de onderzochte proefbehandelingen. Ook op de conditiescore, locomotiescore en het lichaamsgewicht werden geen effecten gevonden van de proefbehandelingen.

In conclusie kan gesteld worden dat de biologische klok van de melkkoe relatief ongevoelig is voor rood licht. Deze bevinding is van belang voor de keuze van stalverlichting. Het wordt aanbevolen om behalve de lichtsterkte ook het spectrum van een lichtbron in acht te nemen. Een lichtbron waarin meer korte golflengten (blauw, groen, geel) dan lange golflengten (rood) vertegenwoordigd zijn, is effectiever in het stimuleren van de biologische klok. Daarentegen is (monochromatisch) rood licht de meest ideale lichtbron om in te zetten als nachtverlichting - in het geval dat de melkveehouder tijdens de nachtelijke duistere periode in de stal moet zijn - omdat bij deze lichtkleur het bioritme van de koe het minst wordt verstoord.

INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING	1
2	MATERIAAL EN METHODEN	2
2.1	Proefaccomodatatie en hoofdlijnen van het onderzoek	2
2.2	Proefbehandelingen	2
2.2.1	Basisperiode	2
2.2.2	Experimentele periode	2
2.3	Lichtbronnen	5
2.4	Overige aspecten van het bedrijfsmanagement	6
2.5	Waarnemingen en statistische analyses	7
2.5.1	Melkproductie	8
2.5.2	Gedragsactiviteit	8
2.5.3	Welzijn en conditie	9
2.5.4	Hormoonprofielen	10
3	RESULTATEN	11
3.1	Melkproductie	11
3.2	Gedragsactiviteit	14
3.2.1	Resultaten basisperiode	16
3.2.2	Resultaten experimentele periode (analyse in twee helften)	16
3.2.3	Resultaten experimentele periode (analyse periode als geheel)	17
3.2.4	Resultaten experimentele periode genormaliseerd t.o.v. basisperiode	17
3.3	Welzijn en conditie	19
3.4	Hormoonprofielen	20
3.4.1	Melatonine	20
3.4.2	Prolactine	22
4	DISCUSSIE	23
5	CONCLUSIES	26
6	PRAKTIJKTOEPASSING	27
7	REFERENTIES	29
8	BIJLAGEN	31

1 INLEIDING

In zoogdieren, waaronder melkkoeien, wordt een groot aantal lichaamsfuncties, zoals hormoonspiegels, gedrag en de activiteit van verschillende organen, gereguleerd door de biologische klok, een klein hersengebied in de hypothalamus. De biologische klok genereert een ritme van ongeveer 24 uur en legt dit ritme op aan gedrags- en fysiologische processen. Dit ritme moet worden gesynchroniseerd aan het dag-nacht ritme, zodat lichaamsprocessen synchroon lopen aan het juiste moment van de dag. Deze synchronisatie tussen het lichaam ('intern') en de omgeving ('extern') vindt plaats door licht. De biologische klok ontvangt lichtinformatie via zenuwbanen uit het oog, waar het licht wordt gedetecteerd door gespecialiseerde oogpigmenten. Deze lichtinformatie wordt tevens gebruikt om te anticiperen op seizoensritmes, door middel van registratie van veranderingen in de daglengte. Hierbij speelt het hormoon melatonine een grote rol. Melatonine spiegels in het bloed zijn hoog tijdens de nacht en laag tijdens de dag. Als een koe licht ziet, zendt de biologische klok een signaal naar de pijnappelklier (een kliertje in de hersenen) dat de productie van melatonine onderdrukt. De tijdsduur van melatonine secretie weerspiegelt de daglengte. Dit proces zorgt in zoogdieren voor seizoensveranderingen in reproductie, metabolisme, lactatie en andere gedrags- en fysiologische functies, zoals verwisseling van winter- en zomervacht. Doordat elk oogpigment zijn eigen gevoeligheidsgebied heeft wat betreft lichtkleur, lichtintensiteit en lichtduur, heeft de koe het natuurlijke vermogen om optimaal te anticiperen op dag/nacht- en seizoensritmes. De hypothese is dat de lichaamsfuncties van de koe geoptimaliseerd kunnen worden door een betere afstemming van de verlichting op de natuurlijke eigenschappen van het oog en de interne klok.

Uit onderzoek is gebleken dat onder condities van een lange dag, dit wil zeggen 16 uur licht gevolgd door 8 uur volledige duisternis, een 6-15% hogere melkproductie bereikt wordt in vergelijking met koeien die onder condities van een korte dag of natuurlijke daglengte worden gehouden (Dahl et al., 2000). Dit effect kan worden toegeschreven aan de activatie van de biologische klok door het licht. Verlichtingsprogramma's in de melkveehouderij die een zomerdag nabootsen worden in de Verenigde Staten al jaren op grote schaal toegepast. In Nederland is het belang van stalverlichting onder de aandacht gebracht door een uitgebreide literatuurstudie (Biewenga en Winkel, 2003). Echter, een praktijkonderzoek naar de effecten van licht is in Nederland nog nooit uitgevoerd. Dit project had als doel vast te stellen of het kleurenspectrum van invloed is op de melkproductie, conditie, gedrag en hormoonprofielen van melkkoeien, hetgeen internationaal nog niet eerder onderwerp van studie is geweest.

Dit rapport bevat een beschrijving van de proefopzet (hoofdstuk 2), een beknopte weergave en discussie van de onderzoeksresultaten (hoofdstukken 3 en 4) en de conclusies die uit dit onderzoek worden getrokken (hoofdstuk 5). Tenslotte wordt ingegaan op de toepassing in de praktijk van de melkveehouderij, waarbij enkele aanbevelingen gedaan worden (hoofdstuk 6).

2 MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Proefaccomodatatie en hoofdlijnen van het onderzoek

Dit onderzoek werd uitgevoerd in de 1-2-1 rijige ligboxenstal van Melkveeproefbedrijf Nij Bosma Zathe van Wageningen UR Livestock Research te Leeuwarden (thans: Dairy Campus), tussen 28 september 2009 en 14 maart 2010. Voor het onderzoek werd gebruik gemaakt van vier groepen van elk 16 koeien. Het middendeel van de stal, gelegen tussen de twee voergangen, bestond uit vier identieke groepen met per groep een rij van 16 ligboxen, een krachtvoerbox en een loopgang langs het voerpad/voerhek, met betonnen roostervloeren. In het centrum van de vier groepen bevond zich een 4+4 stands tandem melkstal waarin de vier groepen koeien werden gemolken. De vier groepen koeien werden blootgesteld aan verschillende proefbehandelingen bestaande uit extra kunstlicht van een specifieke kleur in de ochtend en avond, als aanvulling op het natuurlijk licht. Aan deze koeien zijn waarnemingen gedaan t.a.v. de melkproductie, gedragsactiviteit, welzijn en conditie, en hormoonprofielen.

2.2 Proefbehandelingen

2.2.1 Basisperiode

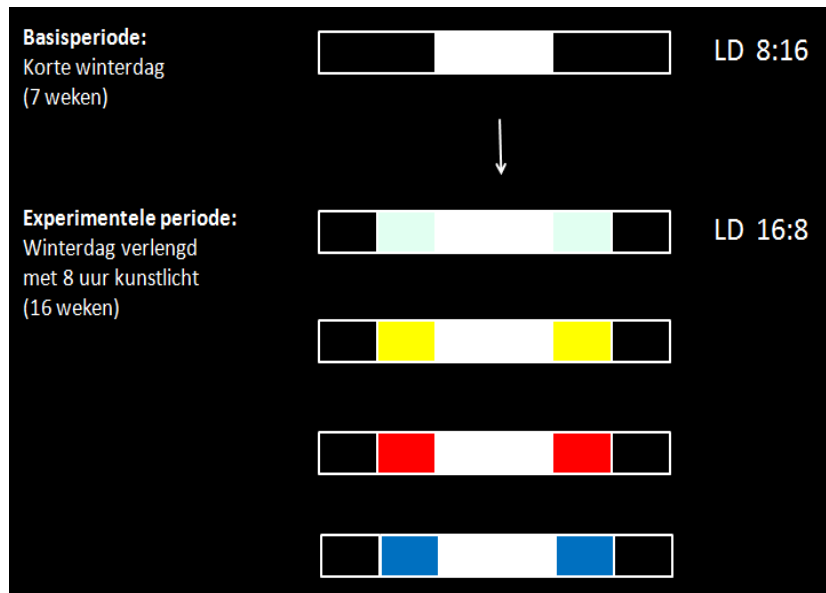
De melkkoeien in dit onderzoek zijn ingedeeld in vier groepen van uniforme samenstelling, d.w.z. een vergelijkbare leeftijd, lactatiefase, productie en voorgeschiedenis. Tijdens de *basisperiode* van de studie werden alle koeien gehuisvest onder dezelfde, conventionele verlichtingsnorm. Dit betekent: natuurlijk daglicht, invallend via lichtdoorlatende golfplaten in het dak en nok, en via open zijgevels. De basisperiode duurde 7 weken (28 september t/m 15 november 2009). De verlichtingssterkte in de stal bedroeg 50-170 lux. De natuurlijke daglengte in deze periode was 12 uur bij aanvang van de proef, en nam gedurende de basisperiode af tot een daglengte van 8 uur in de laatste week van de basisperiode ('korte dag', van 8:30 uur tot 16:30 uur). Gedurende de hele proef werd blootstelling aan direct daglicht via de zijgevels vóór 8:30 uur en na 16:30 uur beperkt door verduisteringsgordijnen ter hoogte van het voerhek die via katrollen naar beneden gedraaid konden worden (zie Fig. 2C). Tijdens de nacht was de stal geheel donker. Wanneer er een nachtelijke controle plaats vond door de dierverzorgers, werd gebruik gemaakt van rode nachtverlichting.

2.2.2 Experimentele periode

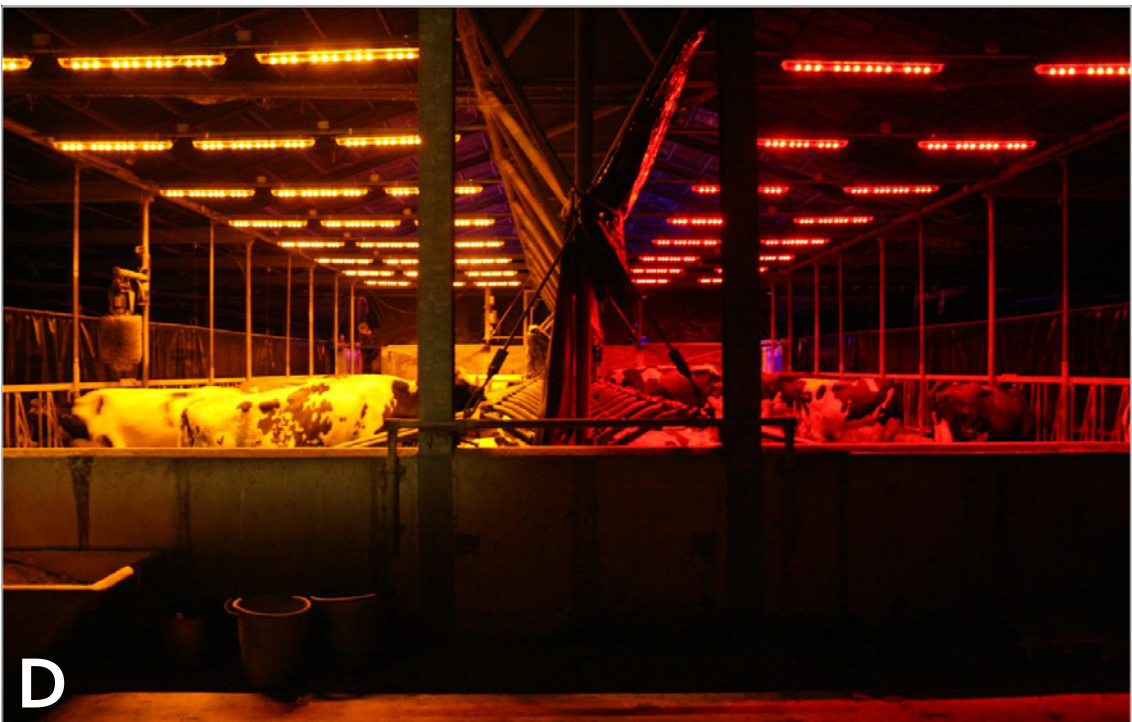
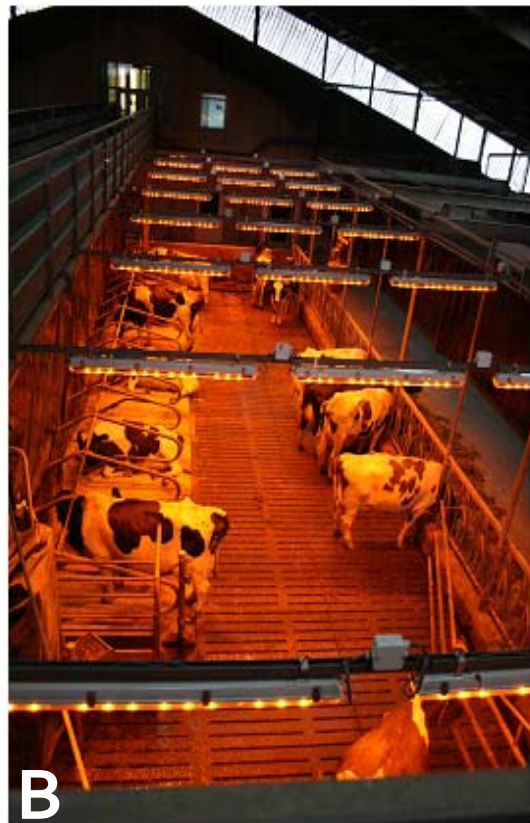
Tijdens de *experimentele periode* werd het melkvee blootgesteld aan een 'lange dag'-lichtschema, namelijk 16 uur licht, en 8 uur duisternis. Dit werd bewerkstelligd door de verlichting door invallend natuurlijk daglicht te handhaven zoals in de basisperiode, en zowel in de ochtend- als in de avonden artificieel te verlichten met gekleurde LED verlichting. De verduisteringsgordijnen waren in gebruik vóór 8:30 uur en na 16:30 uur, overeenkomstig met het beleid in de basisperiode. Tijdens de nacht was het geheel donker. Dit lichtbeleid werd gehanteerd gedurende een periode van 16 weken (30 november 2010 t/m 14 maart 2010). De LED lampen waren dagelijks aan van 4:30 - 8:30 uur in de ochtend, en van 16:30 - 20:30 uur in de middag en avond.

De kleur van het licht was verschillend per groep:

- groep 1: een combinatie van geel (592 nm), rood (630 nm) en blauw (462 nm) licht
- groep 2: monochromatisch geel licht (592 nm)
- groep 3: monochromatisch rood licht (630 nm)
- groep 4: monochromatisch blauw licht (462 nm)



Figuur 1 Schematische weergave van de proefopzet. Elk blok representeert 24 uur, waarvan 8 uur natuurlijk daglicht de stal binnenvalt (wit gearceerd). Boven de pijl is de lichtconditie van de basisperiode zichtbaar (8 uur daglicht, gelijk voor alle groepen). Beneden de pijl is de experimentele lichtconditie weergegeven voor ieder van de 4 groepen. In de ochtend en in de avond wordt 4 uur extra licht gegeven, waardoor de dag verlengd wordt tot 16 uur licht. De kleur van het licht is verschillend per groep. Groep2 = geel licht, groep 3 = rood licht, groep 4 = blauw licht. Groep 1 is een combinatie van alle kleuren licht (~ wit licht).

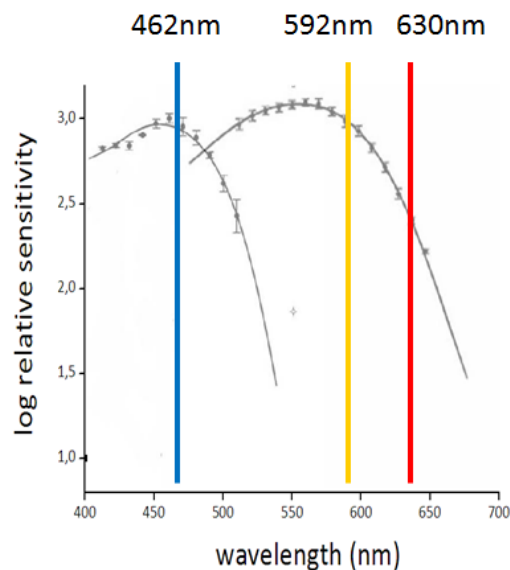


Figuur 2 A: de vier groepen werden van elkaar gescheiden middels lichtdicht folie. De foto laat één van de groepen zien. B: Bovenaanzicht van een groep met geïnstalleerde LED verlichting C: Verduisteringsgordijnen werden naar beneden gedraaid om te voorkomen dat de koeien werden blootgesteld aan direct daglicht voor 8:30 en na 16:30 uur. D: zijaanzicht van groep 2 (geel licht; links) en groep 3 (rood licht; rechts).

2.3 Lichtbronnen

De gekozen verlichting bestond uit monochromatisch licht (LED verlichting). De lichtkleuren zijn afgestemd op de spectrale gevoeligheden van de verschillende oogpigmenten van de koe (zie ook Fig. 3). De retina (netvlies) van het koeienoog beschikt over een dichromatisch visueel stelsel. Dit betekent dat het koeienoog twee typen kegeltjes bevat met elk een eigen gevoeligheid voor licht van een bepaalde golflengte (in tegenstelling tot de mens die over drie typen kegeltjes beschikt). De twee typen kegeltjes in het koeienoog hebben maximale gevoeligheden voor 451 nm (blauw licht) en 555 nm (groen licht) (Jacobs et al., 1998; weergegeven in Fig. 3). Daarnaast bevat het oog van de koe staafjes (gevoeligheid rond 500 nm) en - naar alle waarschijnlijkheid - het oogpigment 'melanopsine' (gevoeligheid voor 480 nm, blauw licht), dat een grote rol speelt in de regulatie van de biologische klok (beiden niet weergegeven in Fig. 3).

De gekozen lichtintensiteit van de LED verlichting is berekend op basis van een literatuurstudie (Muthuramalingam et al., 2006). De lichtintensiteit is zo ingesteld dat het aantal fotonen/m² per s van elke lichtkleur gelijk is. De lichtintensiteit per grondoppervlak is bij aanvang van de proef uitvoerig gemeten in alle groepen, en tijdens de proef tweemaal herhaald. De lichtintensiteit van het artificiële licht was 0,50 μMol/m² per s fotonen in de groepen 2 (geel licht), 3 (rood licht), en 4 (blauw licht), en 1,50 μMol/m² per s fotonen in groep 1 (mix van geel, rood en blauw licht). Metingen van het lichtkleurenspectrum van de verschillende LED lampen zijn in kaart gebracht in bijlage 1.

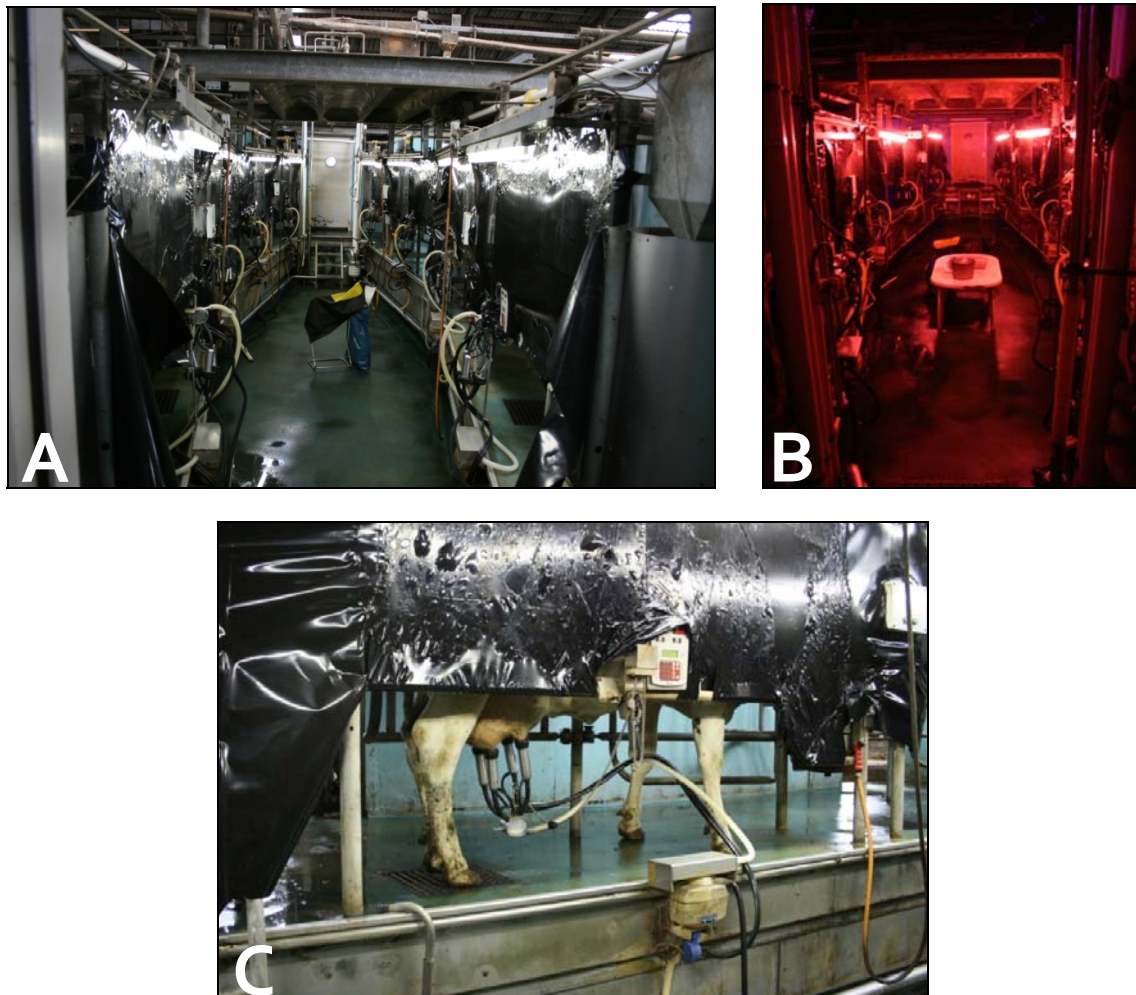


Figuur 3 Weergave van de spectrale gevoeligheid van de twee typen kegeltjes (Jacobs et al., 1998) waarbij de keuze voor de LED verlichting is ingetekend (gekleurde lijnen). Behalve de twee typen kegeltjes bevat het koeienoog 'staafjes', met een optimum rond 500 nm, en 'melanopsine', met een optimum rond 480 nm (beiden niet weergegeven in deze figuur). Te zien is dat het koeienoog slechts lage gevoeligheid heeft voor rood licht.

2.4 Overige aspecten van het bedrijfsmanagement

Afgezien van de verschillen in proefbehandeling werden alle overige factoren voor de vier groepen koeien identiek gehouden. De samenstelling van het basisrantsoen was: circa 30 kg kuilgras, 10 kg snijmaïs, 1,5 kg soja en 4 kg bierborstel per koe per dag. Daarnaast werd krachtvoer verstrekt via de krachtvoerboxen. In week 6 van de experimentele periode is het kuilgrasrantsoen overgegaan op een nieuwe kuilvoersnede. Deze overgang gold voor elk van de vier proefbehandelingen.

Wanneer een koe de groep moest verlaten, bijvoorbeeld om af te kalven of vanwege ziekte, werd er een nieuwe koe geplaatst om de groepsgrootte en groepsdynamiek zo veel mogelijk gelijk te houden (totaal 16 koeien per groep). Het aantal koeien waarover analyses gedaan konden worden was: groep 1: n=12, groep 2: n=13, groep 3: n=13, groep 4: n=14. De gemiddelde leeftijd (in jaren) van deze groepen bedroeg: groep 1: $5,1 \pm 0,7$; groep 2: $4,7 \pm 0,5$; groep 3: $5,1 \pm 0,5$; groep 4: $4,9 \pm 0,6$.



Figuur 4 A, B en C: impressie van de melkstal. A en C: de melkplekken van de koeien zijn afgeschermd van licht uit de melkstal middels lichtdicht folie. C: Tijdens de donkeruren wordt er gemolken onder rood licht.

Tijdens het onderzoek is gebruik gemaakt van een melkstal waar de koeien tweemaal per dag, op vaste tijden, gemolken werden. Het gebruik van een melkrobot werd als minder geschikt beschouwd, omdat bekend is dat variatie in het bezoekgedrag, ondermeer veroorzaakt door verschillen in rangorde of tijdelijk lichamelijk ongerief, kan leiden tot variatie in de melkproductie. De melktijden waren van 6:00-8:00 in de ochtend en van 16:00-18:00 in de avond. Tijdens het melken in de melkstal waren de koeien afgeschermd van ongewenst licht d.m.v. tussenschotten en lichtdicht folie (zie Fig. 4A en 4C). Voor 8:30 uur en na 16:30 uur werd er gebruik gemaakt van rood licht.

2.5 Waarnemingen en statistische analyses

In dit onderzoek zijn waarnemingen verricht aan de koeien ten aanzien van vier aspecten: melkproductie, welzijn en conditie, gedragsactiviteit en hormoonprofielen. Een overzicht van de gemeten kenmerken is weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1 Overzicht van gemeten kenmerken in dit onderzoek

Aspect	Kenmerk	Eenheid	Meetfrequentie
Melkproductie	Melkhoeveelheid	kg/koe per dag	dagelijkse som van ochtend- en avondmeting
	Vetgehalte	%	wekelijks gemiddelde van 2 ochtend- en 2 avondmelkmonsters
	Eiwitgehalte	%	
	Lactosegehalte	%	
	Ureumgehalte	mg/100 ml	
Welzijn en gezondheid	Lichaamsgewicht	kg	meetdag in week -2; 6; 14
	Locomotiescore	score: 1-5	meetdag in week -2; 2; 6; 10; 14
	Conditie score	score: 1-5	
Gedrag	Liggen	% tijd liggen	per minuut, doorlopende registratie gedurende gehele proef
	Staan	% tijd staan	
	Stappen	# stappen per koe per uur	
Hormoonprofielen	Melatonine	pg/ml	meetdag in week -1; 7; 14
	Prolactine	ng/ml	

2.5.1 Melkproductie

De melkproductie per koe werd bepaald aan de hand van de daggiften en werd samengevat in gemiddelde melkproducties per week. Daarnaast werden wekelijks de volgende kenmerken gemeten in twee ochtend- en twee avondsamples en uitgedrukt als gemiddelde per dag: % vet, % eiwit, % lactose, ureum (mg/dl) en celgetal.

De data zijn op verschillende manieren geanalyseerd. De melkproducties zijn hier uitgedrukt als 'Fat-Protein Corrected Milk' (FPCM), waarbij de vet- en eiwitgehalten van het aantal kilogrammen melk zijn gecorrigeerd naar een standaard samenstelling van 4 % vet en 3,5 % eiwit. Deze uitdrukkingmethode is relevant omdat dit het vergelijken van de melkproducties tussen koeien mogelijk maakt. De hoeveelheid FPCM werd berekend volgens de formule:

$$\text{FPCM (kg)} = (0,337 + 0,116 * \% \text{ vet} + 0,060 * \% \text{ eiwit}) * \text{geproduceerde kg melk}$$

De data zijn geanalyseerd met behulp van een mixed regression model, waarbij de volgende parameters werden meegenomen als covariaat: lactatiefase (categorieën: lactatiefase I: 0-75 dagen; lactatiefase II: 75-150 dagen, lactatiefase III: 150-225 dagen; lactatiefase IV: 225-300 dagen), lactatiejaar (jaar 1 t/m 6) en leeftijd (2-7 jaar).

2.5.2 Gedragsactiviteit



In elke groep hebben 10 koeien een activiteitsmeter (IceTag; IceRobotics) gedragen om de achterpoot. De volgende gegevens zijn geregistreerd door de IceTags: % staan per uur, het aantal stappen per uur en het aantal stabouts waaraan is begonnen per uur. De waarnemingen zijn per koe afzonderlijk geplot in een 'actogram'. Enkele voorbeelden hiervan zijn opgenomen in Figuur 12.

Voor de analyse zijn de waarnemingen gesplitst in drie perioden: een basisperiode (7-10-2009 t/m 15-11-2009), de eerste helft van de experimentele periode (21-11-2009 t/m 20-1-2010) en de tweede helft van de experimentele periode (21-1-2010 t/m 18-3-2010). Deze splitsing van de experimentele periode werd gedaan om te kunnen vaststellen of er sprake was van een geleidelijke verandering van de gedragsactiviteit.

Voor de basisperiode waren 35.030 records beschikbaar voor analyse, waarbij voor 32.931 records ook gegevens over het aantal stabouts bekend waren. Voor de eerste helft van de experimentele periode waren 48.430 records beschikbaar voor analyse, waarbij voor 45.271 records ook gegevens over het aantal bouts bekend waren. Voor de tweede helft van de experimentele periode waren 42.555 records beschikbaar voor analyse, waarbij voor 39.296 records ook gegevens over het aantal bouts bekend waren.

De gegevens zijn met ASreml geanalyseerd met het volgende statistische model:

$$y = \mu + pw + beh + beh.uur + dier.lacmnd + spl(dagno) + e$$

waarbij:

- *pw* = effect van proefweek
- *beh* = effect van proefbehandeling (1 – 4)
- *beh.uur* = effect van het moment op de dag (uurperiodes 1 – 24) binnen behandeling
- *dier.lacmnd* = effect van dier per lactatiemaand
- *spl(dagno)* = effect van het dagnummer sinds de start van het experiment
- *e* = restterm

Dier.per, *spl(dagno)* en *e* waren de random termen in het model.

2.5.3 Welzijn en conditie

Om na te kunnen gaan of er effecten van de proefbehandeling bestaan op het dierwelzijn en de algemene conditie van de koeien, zijn drie kenmerken geselecteerd welke gedurende de proef zijn gemeten, namelijk de conditiescore, de locomotiescore en het lichaamsgewicht. De metingen werden verricht door dezelfde onderzoeker om random fouten ten gevolge van subjectiviteit te voorkomen. De metingen zijn uitgevoerd bij 12 koeien per groep. Het lichaamsgewicht is gemeten in de één-na-laatste week van de basisperiode en in week 6 en 14 van de experimentele periode. Conditiescore en locomotiescore zijn bepaald in de één-na-laatste week van de basisperiode en in week 2, 6, 10 en 14 van de experimentele periode.

De *conditiescore* is een maat voor de lichaamsconditie en werd uitgedrukt op een schaal van 1 tot 5 (waarbij 1 = mager en 5 = vet) met behulp van een gevalideerde conditie score kaart. De *locomotiescore*, welke wordt gebruikt als een maat voor het functioneren van het bewegingsapparaat, werd uitgedrukt op een schaal van 1-5 (waarbij 1 = normale gang en 5 = ernstig kreupel). Het *lichaamsgewicht* werd gemeten met een mobiele weegschaal zodat de koe in de groep kon blijven en zo weinig mogelijk onrust ontstond.

2.5.4 Hormoonprofielen

Om 24-uurs profielen van de hormonen melatonine en prolactine te kunnen bepalen werd bloed afgenomen bij 7 koeien per groep op de volgende dagen: 13 november 2009 (laatste week van de basisperiode), 12 januari 2010 (week 7 van de experimentele periode) en 5 maart 2010 (week 14 van de experimentele periode). De bemonsteringsfrequentie was elke twee uur. Hiertoe werd een katheter in de halsader geplaatst (Fig. 5). Een enkele keer lukte het niet om bloed uit de katheter te tappen. In dat geval werd er bloed in de staartvene geprikt. Het bloed werd opgevangen in 10 ml EDTA buisjes en gecentrifugeerd, waarna het plasma werd afgepipetteerd en opgeslagen bij -20 °C. Bloedmonsters tijdens de donkeruren werden afgenomen onder rood licht.



Figuur 5 Om frequent bloed te kunnen verzamelen werd een katheter aangebracht in de halsader van de koe.

3 RESULTATEN

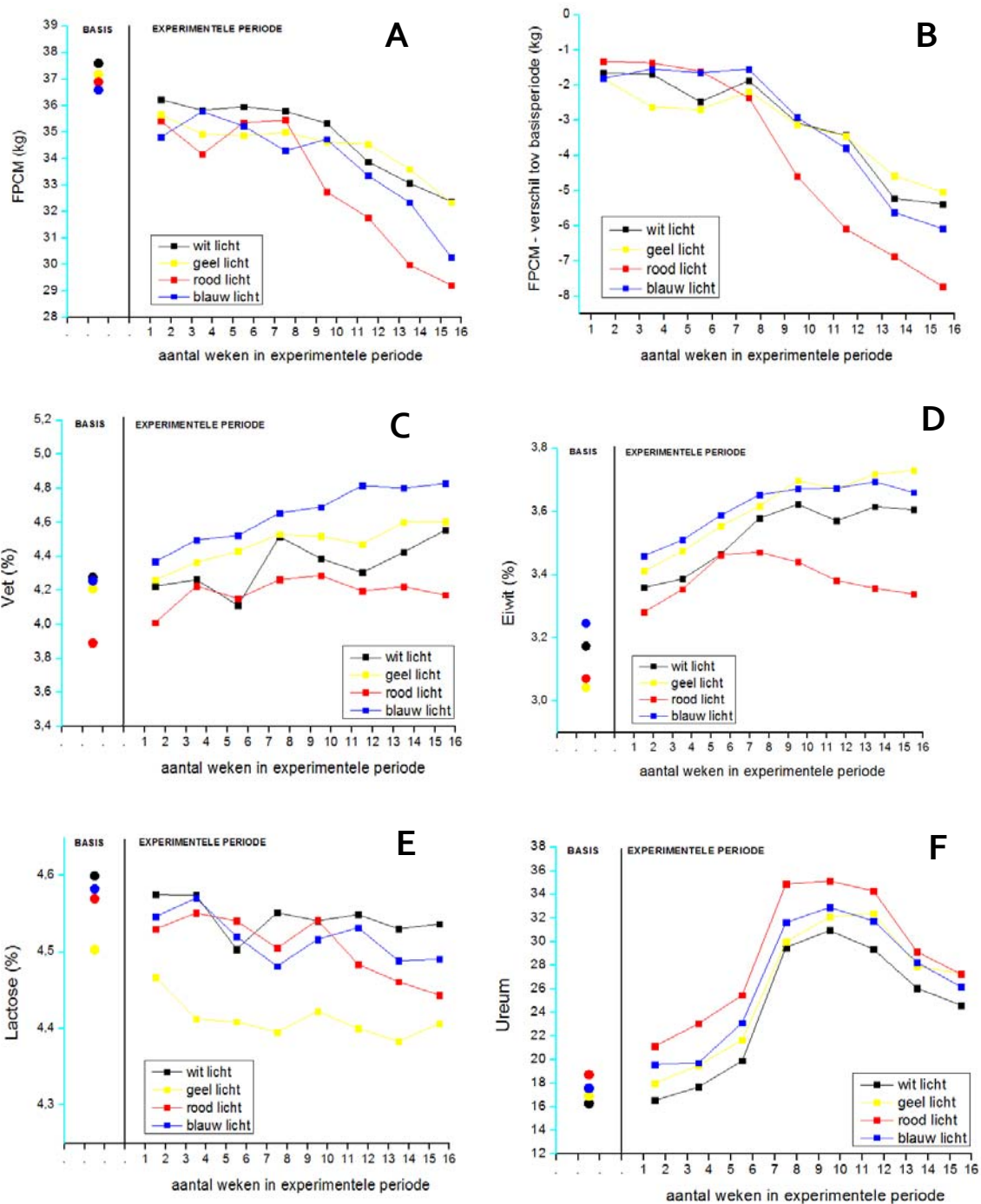
3.1 Melkproductie

Het gemiddelde aantal dagen in lactatie (\pm SEM) bij aanvang van de proef bedroeg: groep 1 = 90 ± 4 ; groep 2 = 99 ± 5 ; groep 3 = 107 ± 9 ; groep 4 = 106 ± 8 . Op basis van een hoog celgetal (> 1500) zijn 20 van de 675 weekgemiddelden (3,0% van de records in de dataset) niet meegenomen in de analyses. Daarnaast zijn van één koe alle records uitgesloten van de analyses vanwege een hoog celgetal gedurende de gehele proef. Dit betrof een koe uit groep 2 (geel licht).

Uit de analyse van de melkproductiedata is gebleken dat er geen statistisch significante verschillen bestaan in de melkhoeveelheid tussen de proefbehandelingen. Er werd een significant effect gevonden van lactatiefase (categorieën I, II, III of IV), aangezien de melkgift afhankelijk is van het aantal lactatiedagen bij aanvang van de proef. Vervolgens is ervoor gekozen de analyse te richten op de koeien met een vergelijkbare lactatiefase, namelijk de koeien die zich bij aanvang van de proef bevonden in lactatiefase categorie II (75-150 dagen in lactatie bij aanvang van de proef). Dit is de categorie waartoe de meeste dieren behoorden (totaal 28 koeien: groep 1 = wit licht ($n=7$); 2 = groen licht ($n=6$); 3 = rood licht ($n=6$); 4 = blauw licht ($n=9$)). In de overige categorieën (lactatiefase I, III en IV) was het aantal koeien te klein om tot een goede analyse te kunnen komen. De hierna beschreven resultaten hebben daarom betrekking op de koeien van lactatiefase categorie II.

In Figuur 6A is de gemiddelde hoeveelheid melk geproduceerd per koe per dag (kg FPCM) per proefbehandeling weergegeven als functie van de tijd (persistentie). Uit de analyse van de onderliggende data is gebleken dat er geen statistisch significante verschillen zijn in persistentie tussen de proefbehandelingen. Wel was de tendens dat de persistentie het laagst was in de rood licht groep (Fig. 6). De verschillen tussen de andere drie groepen zijn minder groot en statistisch niet significant. Ten behoeve van de leesbaarheid van de grafiek zijn de SEM (standard error of the mean) waarden niet weergegeven. Deze lagen in de orde van grootte van 1-2 kg.

Wanneer elk dier wordt gecorrigeerd voor haar eigen basisniveau, door het verschil te bepalen tussen de melkproductie van een koe in de experimentele periode ten opzichte van de melkproductie in de basisperiode van hetzelfde dier, is opnieuw te zien dat de rood licht groep het minst persisteert (Fig. 6B). Uitgedrukt als percentage van de melkproductie in de basisperiode bedroegen de afnamen: wit licht = 14 %; geel licht = 14 %; rood licht = 20 %; blauw licht = 17 %. De verschillen zijn echter niet statistisch significant.



Figuur 6 Melkproductiekenmerken in dit onderzoek uitgedrukt als gemiddelde per proefbehandeling en weergegeven als functie van de tijd. A: de hoeveelheid melk (kg FPCM) geproduceerd per koe per dag. B: het gemiddelde verschil in geproduceerde hoeveelheid melk (kg FPCM) per koe per dag tussen basisperiode en experimentele periode (bepaald op koeniveau). C: vetgehalten (%). D: eiwitgehalten (%). E: lactosegehalten (%). F: ureumgehalten (mg/100 ml).

De gehalten van eiwit, vet, lactose en ureum zijn samengevat in gemiddelde per groep per tijdsblok, waarbij de experimentele periode is opgedeeld in 8 tijdsblokken van elk 2 weken.

Wanneer de gemiddelde vetgehalten per proefbehandeling uitgezet worden als functie van de tijd, is te zien dat het vetgehalte gedurende de proef licht toeneemt in alle groepen (Fig. 6C). Er zijn echter geen verschillen gevonden tussen de proefgroepen; de richtingscoëfficiënten van de groepen zijn nagenoeg gelijk. De rood licht groep ligt weliswaar onderaan, maar dit komt overeen met de relatief lage waarde in de basisperiode.

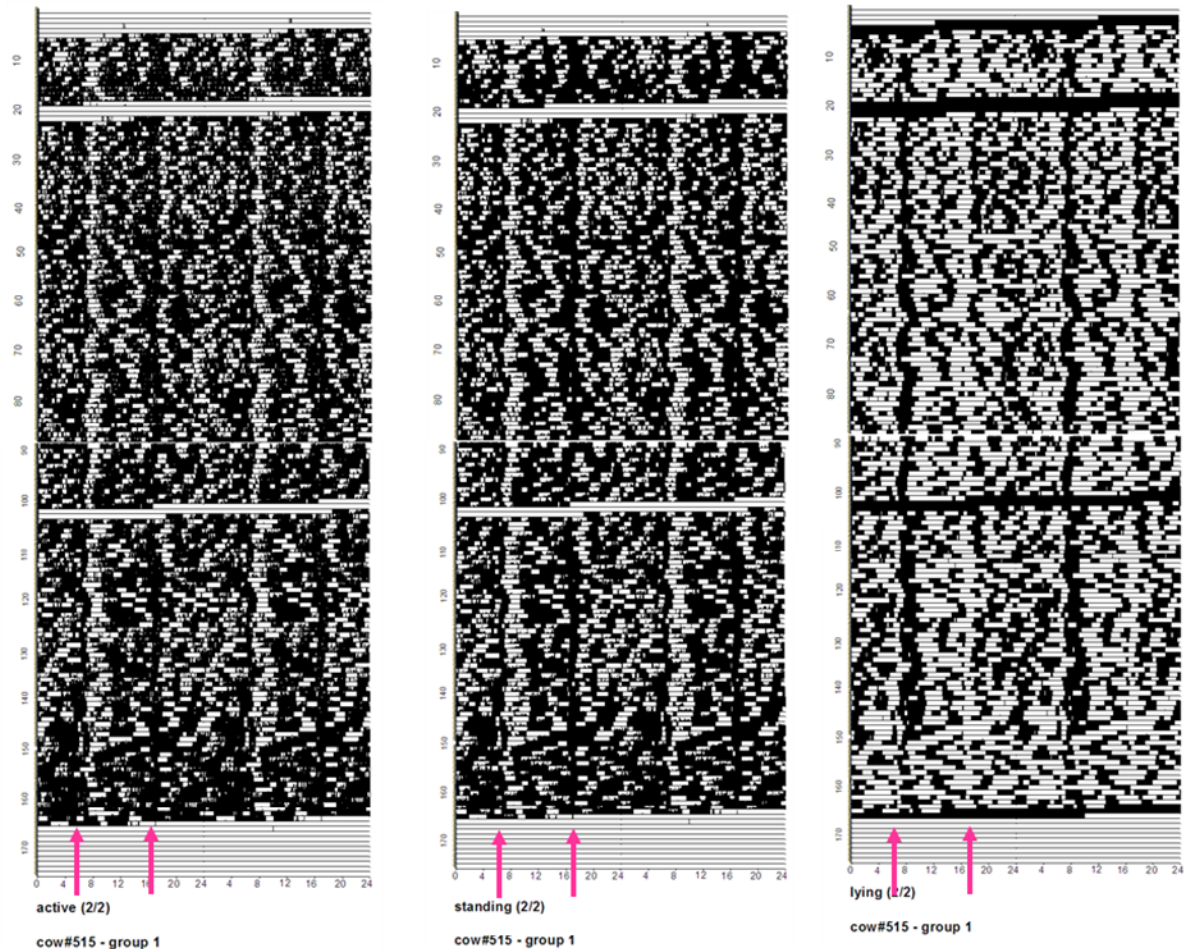
Wanneer de gemiddelde eiwitgehalten per proefbehandeling uitgezet worden als functie van de tijd, is te zien dat het eiwitgehalte stijgt gedurende de lactatieperiode (Fig. 6D). Uit de statistische analyse bleken geen verschillen tussen de groepen met wit licht, blauw licht en geel licht, maar het verloop van het eiwitgehalte in de rood licht groep is significant verschillend van de andere drie. Het eiwitgehalte in deze groep gaat aanvankelijk gelijk op met die in de andere groepen, maar stijgt uiteindelijk minder dan in de andere groepen. Deze afbuiging wordt in de analyse teruggevonden als een significante interactie tussen behandeling en tijd ($p < 0,01$).

Wanneer de gemiddelde lactosegehalten per proefbehandeling uitgezet worden als functie van de tijd, is te zien dat het lactosegehalte aan de hoge kant is ($>4,5$ %) en dat het lactosegehalte van de wit licht groep onderaan ligt (Fig. 6E). Uit de statistische analyse is echter gebleken dat er geen verschil bestaat in het verloop van het lactosegehalte tussen de vier proefbehandelingen. De geellicht groep ligt weliswaar onderaan, maar dit is te verklaren uit de relatief lage waarde tijdens de basisperiode.

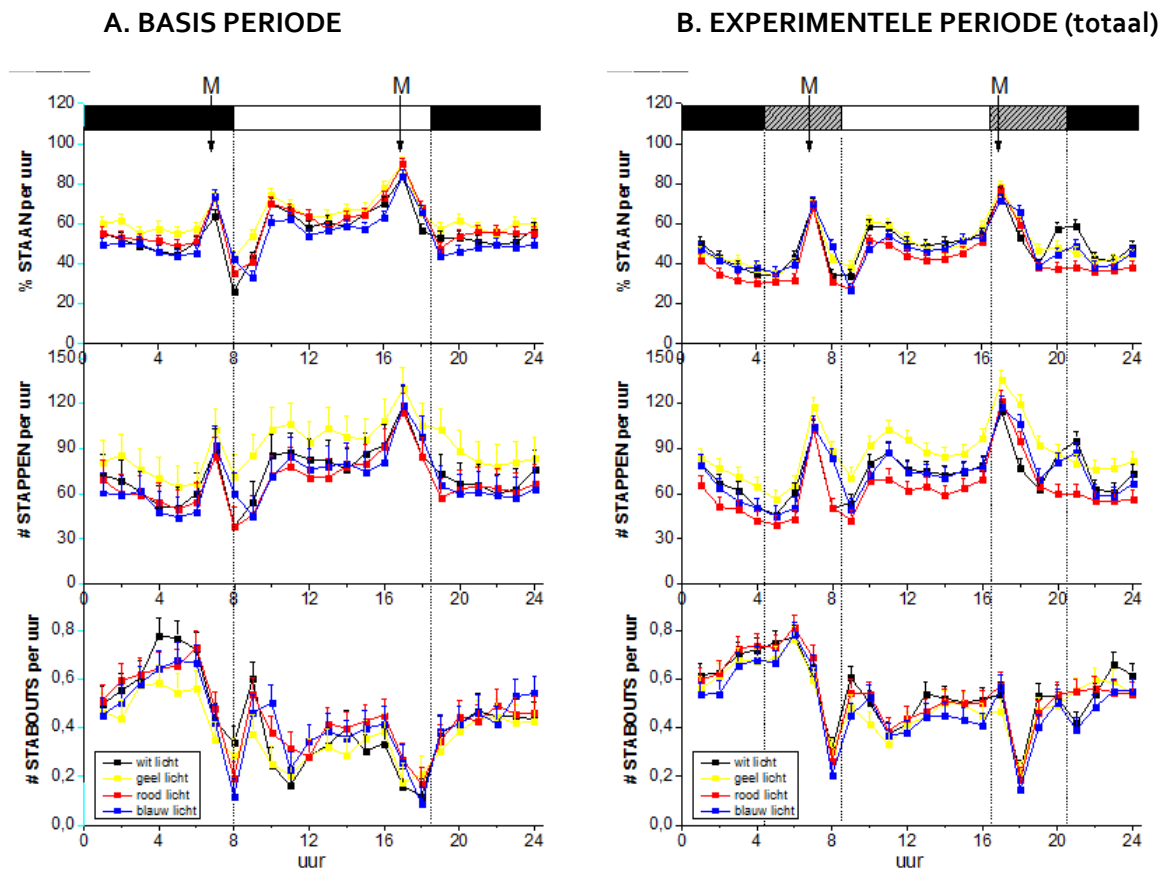
Wanneer de gemiddelde ureumgehalten per proefbehandeling uitgezet worden als functie van de tijd, is te zien dat het ureumgehalte een maximale concentratie bereikt na ongeveer 8 weken in de experimentele periode (Fig. 6F). De meest plausibele verklaring voor dit patroon is een verandering van de kuilvoersnede in het basisrantsoen van alle groepen in week 6 van de experimentele periode. Uit de statistische analyse bleken geen verschillen in het verloop van het ureumgehalte tussen de vier proefbehandelingen. De kleine verschillen in gehalten zijn te wijten aan de verschillen die reeds aanwezig waren in de basisperiode.

3.2 Gedragsactiviteit

In Figuur 7 wordt een voorbeeld gegeven van een zogenaamd 'actogram', zoals verkregen met de IceTags. In Figuur 8 worden de resultaten weergegeven van de gedragsactiviteitsmetingen, zowel voor de basisperiode als voor de experimentele periode. De data zijn op vier manieren geanalyseerd: 1) analyse van de data van de basisperiode, 2) analyse van de data van de experimentele periode; afzonderlijk in een eerste helft en in een tweede helft, 3) analyse van de data van de experimentele periode als geheel, en 4) analyse van de data van de experimentele periode genormaliseerd ten opzichte van basisperiode. De resultaten van deze analyses worden hierna afzonderlijk besproken.



Figuur 7 Voorbeeld van het activiteitspatroon van een koe, weergegeven in de vorm van actogrammen. Elke nieuwe regel is een nieuwe dag, in totaal zijn voor deze koe 160 dagen geplot. Om het activiteitspatroon duidelijk zichtbaar te maken zijn de actogrammen in dubbel-plot weergegeven, d.w.z. dat er 48 uur naast elkaar geplot is, waarbij de laatste 24 uur identiek zijn aan de eerste 24 uur van de volgende regel. Zwart geeft aan: A) aantal stappen per uur; B) % staan per uur; C) % liggen per uur. Figuur 7C is het spiegelbeeld van 7B. De pijlen per actogram geven de melktijden aan en zijn duidelijk terug te zien in de actogrammen. Vanwege het uitlezen van de IceTag data is de recording op twee tijden onderbroken.



Figuur 8 Gemiddelden per proefbehandeling voor de kenmerken: % staan/uur (boven), # stappen/uur (midden) en # staboets/uur (onder). Links is het patroon van de basisperiode weergegeven, rechts het patroon van de gehele experimentele periode (totaal van de eerste en tweede helft van de experimentele periode). De melktijden zijn aangegeven met een pijl en het symbool M. De lichtconditie is aangeduid middels de balk boven de figuur (wit = daglicht; zwart = donker; grijs = artificeel licht). De stippellijnen representeren bij benadering de lichttransities. In de linker figuur is dit de transitie van natuurlijk daglicht naar donker en vice versa. In de rechter figuur zijn dit de transities tussen natuurlijk daglicht en artificeel gekleurd licht (binnenste stippellijnen), of tussen artificeel licht en duisternis (buitenste stippellijnen).

3.2.1 Resultaten basisperiode

In Figuur 8A zijn de activiteitsgegevens van de basisperiode uitgezet op een 24-uurs schaal als gemiddelden per uur per groep. De gegevens laten zich als volgt beschrijven:

- **% Staan:** herkenbaar zijn perioden van verhoogde activiteit rond het melken (uurperioden 7 en 17) en waarschijnlijk rond het voeren (uurperiode 10). Opvallend is dat de activiteit ook 's nachts relatief hoog is.
- **# Stappen:** de patronen voor dit kenmerk zijn goed vergelijkbaar met die voor het percentage staan. Groep 2 (geel licht) lijkt af te wijken van de andere groepen, maar deze afwijking is niet significant.
- **# Stabouts:** het patroon voor dit kenmerk is min of meer het spiegelbeeld van dat van de beide andere kenmerken. Opvallend is dat het aantal stabouts in de nacht relatief hoog is.

3.2.2 Resultaten experimentele periode (analyse in twee helften)

In Figuur 8B zijn de activiteitsgegevens van de experimentele periode uitgezet op een 24-uurs schaal als gemiddelden per uur per groep. Wanneer deze periode in twee helften wordt geanalyseerd, laten de uitkomsten zich als volgt beschrijven:

- **% Staan**
 - Eerste helft van de experimentele periode: extra activiteit rond het melken (uurperioden 7 en 17) en waarschijnlijk rond het voeren (uurperiode 10) zijn herkenbaar. Het patroon vertoont veel gelijkenis met dat in de basisperiode, alleen de verhoging van 20 – 22 uur, met name in groep 1 (wit licht), is afwijkend en opvallend.
 - Tweede helft van de experimentele periode: groep 3 (rood licht) wijkt af van de andere drie groepen doordat de dieren hier gemiddeld minder staan dan in de andere drie groepen. Verder lijken de patronen sterk op die in de eerste helft van de proefperiode.
- **# Stappen**
 - Eerste helft van de experimentele periode: de patronen voor de vier groepen onderling zijn vergelijkbaar en vertonen gelijkenis met die voor het % staan, maar wel zijn er nu niveaunderschillen. De dieren in groep 2 (geel licht) zijn actiever dan die in de groepen 1 (wit licht) en 4 (blauw licht), terwijl de dieren in groep 3 (rood licht) juist minder actief zijn. Uit de statistische analyse van de data blijkt dat dit behandelingseffect significant is ($p < 0.01$).
 - Tweede helft van de experimentele periode: ook hier geldt dat de patronen voor de vier groepen onderling vergelijkbaar zijn en gelijkenis vertonen met die voor het % staan. Bovendien zijn de patronen vergelijkbaar met die in de eerste helft van de proefperiode, al zijn de overall verschillen tussen de proefgroepen nu niet significant.
- **# Stabouts**
 - Eerste en tweede helft van de experimentele periode: de verschillen tussen de proefgroepen zijn zeer gering. Bij de statistische analyse is geen significant behandelingseffect gevonden.

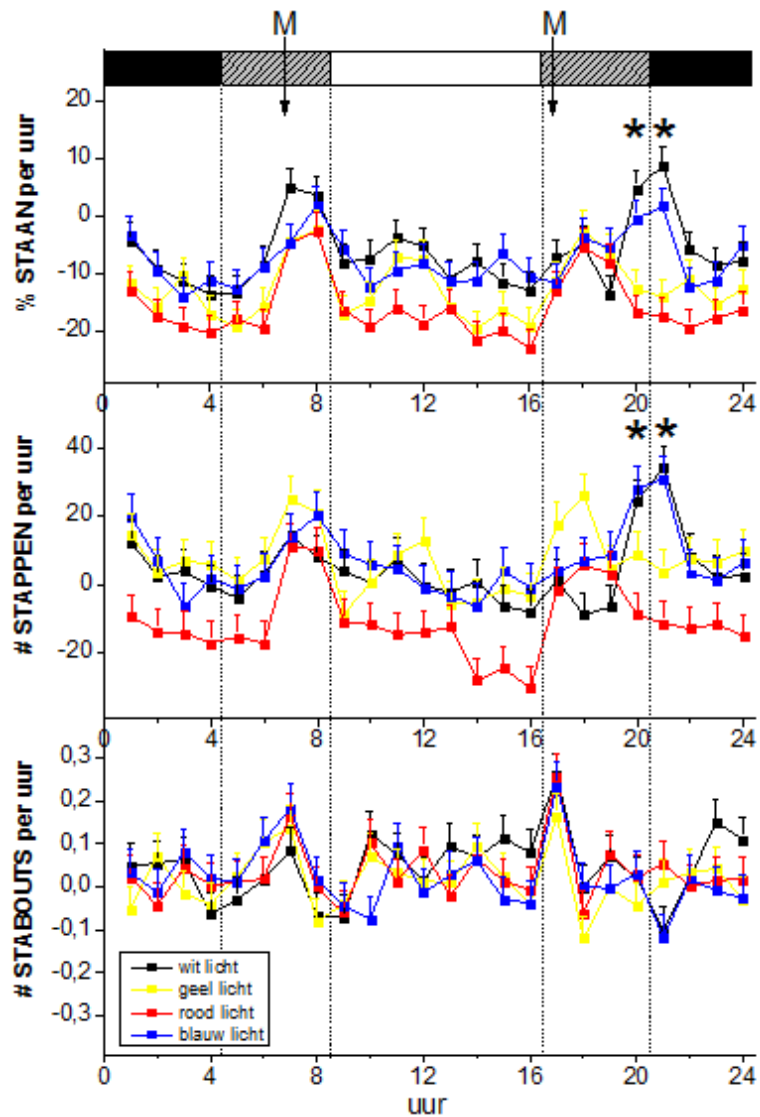
3.2.3 Resultaten experimentele periode (analyse periode als geheel)

Er is een analyse gedaan voor de totale experimentele periode (Fig. 7B). De resultaten komen goed overeen met die voor de eerste en tweede helft apart. Ook met iets aangepaste modellen (alleen de interactie 'proefgroep.uur', proefgroep en uur apart, en met weglating van proefweek) werden vrijwel identieke resultaten verkregen. De vergelijking van de resultaten van de eerste en de tweede helft van de voorperiode geeft aan dat er geen sprake lijkt te zijn geweest van geleidelijke veranderingen gedurende de proefperiode. Het overall verschil tussen de groepen was significant voor % staan en # stappen/uur, voor # stabouts/uur was het verschil tussen de proefgroepen niet significant. Groep 3 (rood licht) had tijdens de experimentele periode een significant lager % staan dan de overige proefgroepen, en ook een significant kleiner # stappen/uur. Groep 2 (geel licht) had tijdens de experimentele periode een significant groter # stappen/uur dan de overige proefgroepen. Deze verschillen lijken over de hele 24-uurs periode voor te komen. Opvallend is dat groep 1 (wit licht) en 4 (blauw licht) actiever zijn tijdens de avonduren (tussen 19:00 en 21:00 uur) in de experimentele periode, in vergelijking met dezelfde uurperiodes in de basisperiode, en in vergelijking met groep 2 (geel licht) en 3 (rood licht).

3.2.4 Resultaten experimentele periode genormaliseerd t.o.v. basisperiode

Bij deze data-analyse zijn de gegevens van de basisperiode als referentie genomen. De data van de experimentele periode zijn uitgedrukt als afwijking van de gemiddelden van het dier zelf in de basisperiode (Fig. 9). Bij deze wijze van corrigeren vallen de records af van koeien waarvan geen gegevens van de basisperiode zijn vastgelegd.

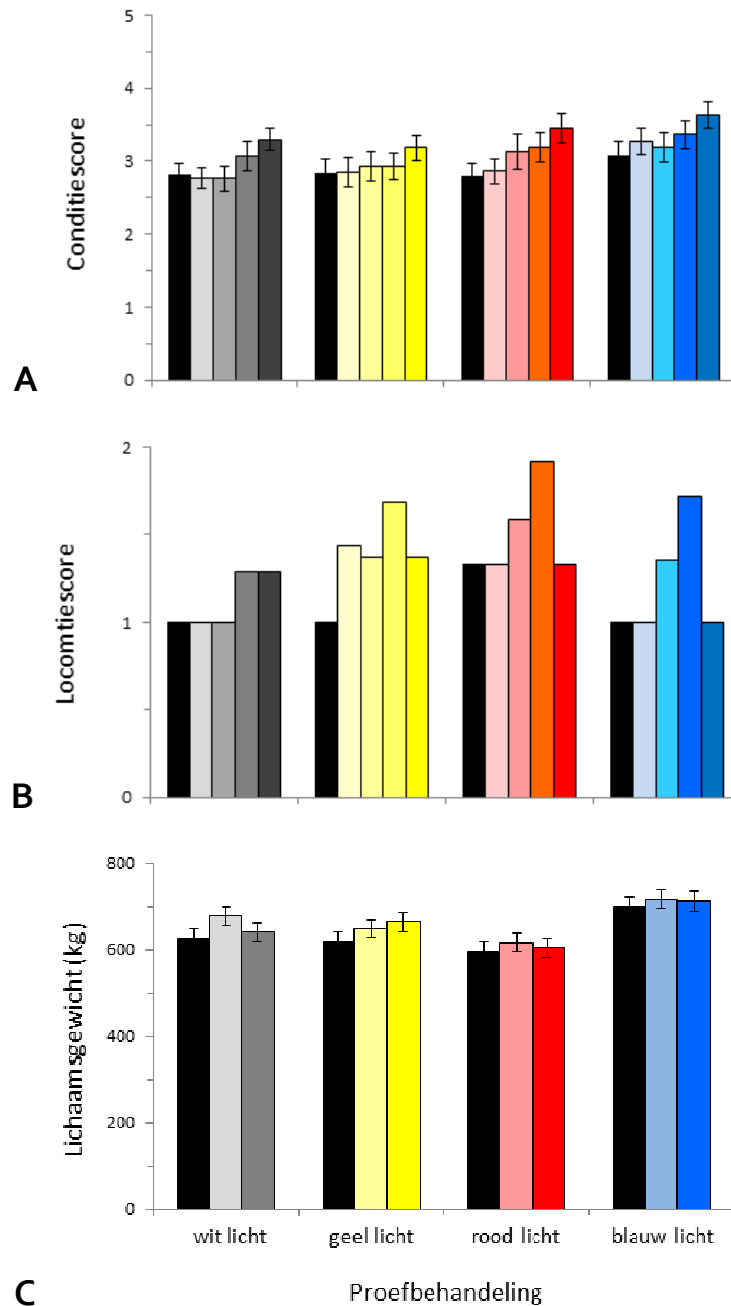
Zoals te verwachten was - gezien de onderling vergelijkbare resultaten voor de eerste en tweede helft van de proefperiode - geeft ook deze analyse vrijwel hetzelfde beeld. Het lijkt erop dat de proefbehandelingen 1 (wit licht) en 4 (blauw licht) vrijwel hetzelfde effect hadden op het gedrag, maar de verschillen met de andere behandelingen in de gemeten kenmerken is gering. In de avonduren (globaal tussen 19:00 en 21:00 uur) hebben de behandelingen 1 (wit licht) en 4 (blauw licht) de dieren gestimuleerd om te gaan staan en meer activiteit te vertonen. Groep 2 (geel licht) en 3 (rood licht) hebben een vergelijkbaar activiteitspiekje (hoewel kleiner) al eerder op de avond (globaal tussen 17:00 en 19:00 uur). Ten opzichte van de andere proefbehandelingen is groep 3 (rood licht) minder actief geweest (minder stappen per uur), ondanks dat deze dieren vrijwel evenveel stonden als de dieren uit groep 2 (geel licht).



Figuur 9 Gemiddelden per proefbehandeling voor de kenmerken: %staan/uur (boven), # stappen/uur (midden) en # staboouts/uur (onder). De gegevens van elk dier zijn genormaliseerd t.o.v. het activiteitsniveau van de basisperiode binnen hetzelfde dier. De melktijden zijn aangegeven met pijl en het symbool M. De lichtconditie is aangeduid middels de balk boven de figuur (wit = daglicht; zwart = donker; grijs = artificieel licht). De stippellijnen representeren bij benadering de lichttransities van natuurlijk daglicht en artificieel gekleurd licht (binnenste stippellijnen), of tussen artificieel licht en donker (buitenste stippellijnen).

3.3 Welzijn en conditie

In Figuur 10 worden de resultaten weergegeven van de kenmerken: conditiescore, locomotiescore en lichaamsgewicht. Uit de statistische analyse is gebleken dat er voor deze kenmerken geen verschillen bestaan tussen de verschillende lichtcondities.



Figuur 10 Gemiddelde conditiescores (A), locomotiescores (B) en lichaamsgewichten (C) per proefbehandeling. De staven in de figuren betreffen achtereenvolgens: de één-na-laatste week van de basisperiode (zwart; zowel A, B als C), en in de experimentele periode: week 2, 6, 10 en 14 (A), week 2, 6, 10 en 14 (B), en week 6 en 14 (C). Op de staven van Figuren A en C zijn SEM weergegeven.

In alle groepen steeg de **conditiescore** licht gedurende de experimentele periode ten opzichte van de basisperiode. Hierbij werden geen verschillen gevonden tussen de verschillende proefbehandelingen.

De **locomotiescore** liep aanvankelijk iets op in alle groepen, maar daalde uiteindelijk weer. Op koe-niveau betekende dit dat in groep 2 (geel licht), 3 (rood licht) en 4 (blauw licht) tweederde van de koeien een lagere score had bij één van de metingen in de experimentele periode, ten opzichte van de basisperiode. In groep 1 (wit licht) ging 'slechts' één derde van de koeien erop achteruit bij één van de metingen in de experimentele periode.

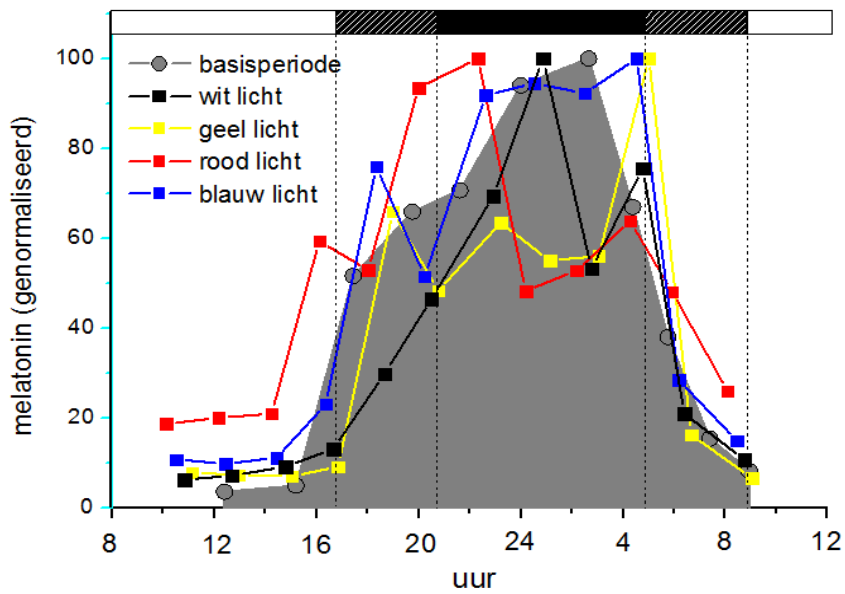
Het **lichaamsgewicht** in de experimentele periode bleef nagenoeg gelijk t.o.v. de basisperiode.

3.4 Hormoonprofielen

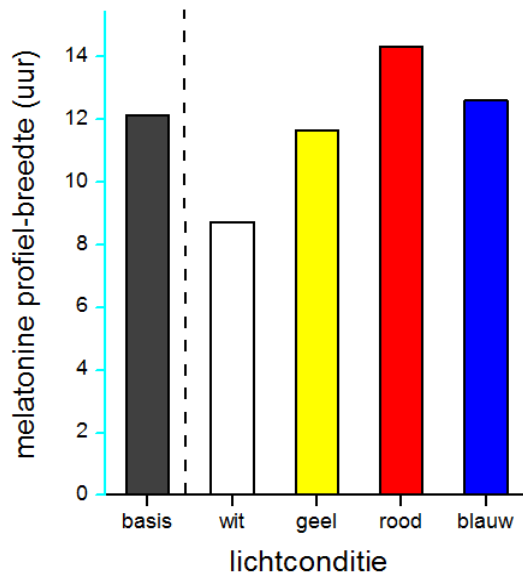
3.4.1 Melatonine

De melatonine concentraties per koe werden uitgezet als functie van de tijd (Fig. 11A). De gemiddelden van alle koeien in de basisperiode zijn weergegeven door het grijze profiel. Melatonine concentraties in de basisperiode zijn laag tijdens de dag en hoog tijdens de nacht. De 'onset' en 'offset' van melatonine komt overeen met de daglengte: melatonine concentraties stijgen in het begin van de avond, vlak voordat het donker wordt. Melatonine daalt in de ochtend, vlak voordat het licht wordt. De breedte (op halfmaximale hoogte) van het melatonineprofiel tijdens de basisperiode is gemiddeld 12 uur (Fig. 11B).

De gegevens van de twee sampledagen in de experimentele periode werden gemiddeld per groep, en zijn in Figuur 11A weergegeven door de gekleurde lijnen. De proefbehandelingen hebben een verschillend effect op de melatonine profielen: groep 1 (wit licht) laat een opvallend smal profiel zien (8,6 uur op halfmaximale hoogte), en groep 3 (rood licht) laat juist een breed profiel zien (14,1 uur). De breedte van de profielen varieert tussen de proefgroepen. Deze verschillen lijken vooral veroorzaakt te worden door een verandering in de timing van de melatonine onset; de timing van de offset is in alle gevallen gelijk en valt samen met de transitie van donker naar artificieel licht. De resultaten zijn verklaarbaar met het gegeven dat enerzijds de aanmaak van melatonine verloopt volgens een circadiaan ritme, en zodoende kan anticiperen op het ritme van de omgeving, en anderzijds dat melatonine direct wordt afgebroken onder invloed van licht. Deze resultaten laten zien dat de melatonine concentraties aangepast zijn aan de daglengte; de melatonine concentraties stijgen aan het eind van de lichtperiode, vlak voordat het donker wordt. Dat de timing hiervan later ligt in de wit licht groep dan in de rood licht groep geeft aan dat het rode licht door de koe nauwelijks als 'licht' gezien wordt, terwijl het witte licht de melatonineproductie nog onderdrukt. De invloed van licht is het grootst in de wit licht groep, de onset van de melatonine productie onder condities van blauw licht en geel licht liggen tussen die van rood licht en wit licht in. De verschillen in profielbreedte zijn samengevat in Figuur 11B.



A

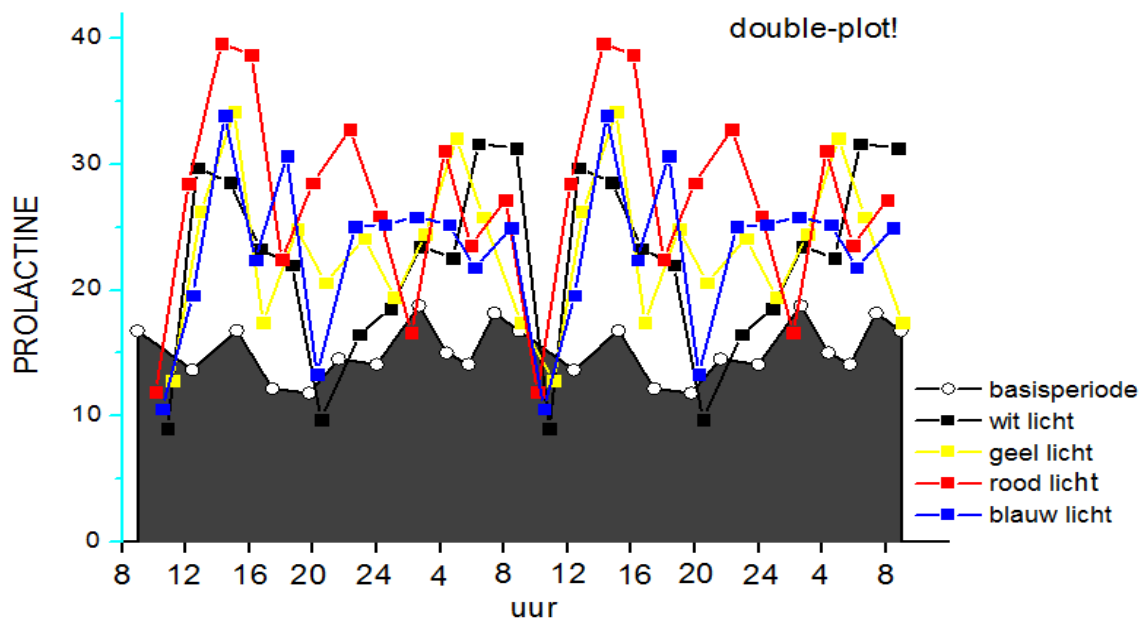


B

Figuur 11 A. De profielen van melatonine zoals gemeten tijdens de basisperiode en tijdens de experimentele periode. De waarden zijn genormaliseerd t.o.v. hun eigen maximum. De profielbreedte op halfmaximale hoogte wordt gebruikt als een standaard om de invloed van de daglengte te meten en is samengevat per lichtconditie in Figuur B.

3.4.2 Prolactine

In Figuur 12 zijn de prolactine concentraties weergegeven als functie van het bemonsteringstijdstip. Ook in deze figuur zijn de gemiddelden van alle koeien in de basisperiode weergegeven door het grijze profiel. Hoewel in de profielen van individuele koeien er soms twee pieken te zien zijn gedurende de 24 uur, namelijk in de middag en in de vroege ochtend (mogelijk gelinkt aan de melktijden), zijn de data te grillig gebleken om hier conclusies aan te verbinden. Wanneer de prolactine concentraties werden gemiddeld per proefbehandeling en weergegeven als functie van het bemonsteringstijdstip (Fig. 12), zijn er geen duidelijke patronen herkenbaar. Dit geldt eveneens voor de basisperiode; ook toen waren reeds weinig veranderingen over de 24 uur waarneembaar. Het is opvallend dat, overall, de prolactine levels hoger zijn tijdens de experimentele periode dan tijdens de basisperiode. Dit geldt voor alle proefbehandelingen; er zijn geen verschillen tussen de groepen gevonden. In de literatuur bestaat er een ambigu beeld van het 24-uurs prolactineprofiel. Enkele studies hebben een verhoging van de prolactine concentraties aangetoond in respons op lange daglengten (Stanisiewski et al., 1984; Tucker et al., 1984). Het is echter evenwel mogelijk dat de verhoogde prolactine concentraties gerelateerd zijn aan de lactatiefase. Samengevat blijkt uit de prolactine waarnemingen dat de variatie tussen koeien binnen proefgroepen groot is, dat er geen duidelijke profielen binnen een 24-uursperiode bestaan en dat geen duidelijk effecten worden gevonden van de proefbehandelingen.



Figuur 12 De profielen van prolactine (ng/ml; gemiddelde concentraties per proefbehandeling en bemonsteringstijdstip) tijdens de basisperiode (grijs) en tijdens de experimentele periode (gekleurd). N.B. de waarden zijn weergegeven in dubbelplot, d.w.z. de x-as geeft een weergave van 48 uur waarbij de laatste 24 uur een kopie zijn van de eerste 24 uur.

4 DISCUSSIE

In dit onderzoek stond de vraag centraal of het lichtkleurenspectrum van invloed is op de biologische klok van de koe. Daartoe zijn vier proefgroepen koeien blootgesteld aan het daglicht van de korte winterdag die heerste ten tijde van het experiment, in de ochtend en avond aangevuld met kunstlicht van een verschillend kleurenspectrum, bestaande uit wit, geel, blauw of rood licht. De totale lichtperiode van daglicht en aanvullend kunstlicht bedroeg 16 uur per dag voor alle proefgroepen. Aan de koeien in deze vier proefgroepen is een scala aan kenmerken gemeten t.a.v. melkproductie, conditie en welzijn, gedrag en hormoonprofielen.

Een belangrijke bevinding van deze studie is dat het melatonine profiel wordt beïnvloed door een verlenging met wit licht, maar niet door een verlenging met rood licht. Dit gaat gepaard met een toename van de activiteit tijdens de avonduren indien de daglengte verlengd wordt door wit licht, maar niet door rood licht.

Melatonine is een marker voor het ritme van de biologische klok. Het melatonine profiel onder wit licht laat een korte periode van melatonine afgifte zien, wat overeenkomt met een lange dag (korte nacht), terwijl het melatonine profiel onder rood licht een lange periode van melatonine afgifte laat zien, wat overeen komt met een korte dag (lange nacht). Dit betekent: 1. dat de biologische klok van de koe ongevoelig is voor rood licht, en 2. dat met bijlichten met wit licht een fysiologische aanpassing plaatsvindt aan een lange dag lichtregime. Deze resultaten representeren een seizoensaanpassing.

De melkproductie staat onder invloed van de seizoenen. Immers, de natuurlijke gang van zaken is dat de koe kalft in het voorjaar en de fysiologie van de koe zo is afgesteld dat de melkgift maximaal is wanneer de dagen langer worden. Het signaal van een lange dag zet een cascade aan endocriene mechanismen in gang, zoals de activatie van prolactine secretie door de pijnappelklier. Een verhoogde melkproductie onder een lange versus korte daglengte, zoals gevonden in voorgaande studies (Dahl et al., 2000), is een seizoensgerelateerd effect.

Hoewel in deze studie weliswaar een seizoensaanpassing is aangetoond, zijn in deze dataset geen uitgesproken 'seizoensinvloeden' op de melkproductie gevonden. Wel is er sprake van een tendens, waarbij een daglengteverlenging met wit, blauw en geel kunstlicht een betere persistentie laat zien dan een daglengte verlenging met rood kunstlicht. Echter dit verschil was niet statistisch significant. Ook Marcek en Swanson (1984) vonden een betere persistentie bij koeien die aan een lange dag werden blootgesteld: de 'maand op maand persistentie' bedroeg 99% voor de lange dag proefgroep, tegen 92% voor de korte dag proefgroep (verschil: 7 procentpunten). Internationaal zijn ten minste acht studies voorhanden die effecten van daglengte hebben onderzocht in een semi-praktijkopzet. De meerderheid van deze studies toont aan dat een lange daglengte leidt tot een hogere melkproductie (Tabel 2). Echter, ook in deze studies zijn de verschillen slechts klein (mediane verschil in melkproductie: +8,3%) en niet altijd statistisch significant. Om dergelijke kleine effecten van lichtbehandelingen aan te kunnen tonen is een experimentele opzet nodig met een groot onderscheidend vermogen. Om de effecten van daglengteverlenging met vier verschillende lichtkleuren vast te kunnen stellen, zijn in dit onderzoek vier proefgroepen van 16 dieren gevormd. Met deze opzet heeft deze studie als eerste kunnen aantonen dat verschillende lichtkleuren inderdaad verschillende effecten hebben op de biologische klok van de koe. Deze inzichten kunnen

als basis dienen voor vervolgonderzoek en voor de toepassing van kunstlicht in melkveestallen. Voor de analyse van de melkproductiegegevens zijn uiteindelijk de data gebruikt van zeer vergelijkbare groepjes van 6 tot 9 (gemiddeld: 7) koeien per proefbehandeling. Om specifieke effecten op de melkproductie met grotere statistische zekerheid vast te kunnen stellen, is het aan te bevelen meer koeien per proefgroep te gebruiken (Tabel 2, deel 2).

Tabel 2 Overzicht van gerapporteerde melkproductie-effecten in acht vergelijkbare experimenten in het verleden, in relatie tot het aantal koeien per lange dag (LD) proefgroep

Studie (#, auteur en jaar)	Effect LD op melkgift ¹⁾	Statistisch significant?	Aantal koeien per LD proefgroep?
3a. Marcek en Swanson, 1984	+0,5–3,0 kg/koe per dag	Nee	7
3b. Marcek en Swanson, 1984	+0,2–2 kg/koe per dag (in vaarzen)	Nee	11 vaarzen
5. Evans en Hacker, 1989	Geen effect	-	5–7
8. Miller et al., 1999	+7%	Nee	10
1. Peters et al., 1978a	+9,8% (dag 1-60 in lactatie)	Ja (P<0,002)	46
2. Peters et al., 1981	+6,7%	Ja (P<0,02)	23
3b. Marcek en Swanson, 1984	Betere persistentie (+7%; in koeien)	Ja (P<0,01)	11 koeien
4. Bilodeau et al., 1989	+5 en +11% (wk 9–16 van proef)	Ja (P<0,05)	16
6. Phillips en Schofield, 1989	+16,7%	Ja ²⁾	12
7. Dahl et al., 1997	+6,5	Ja (P<0,05)	20

¹⁾ Het verschil in melkproductie in de studies in deel 2 bedraagt gemiddeld +9,3%, de mediaan is +8,3%

²⁾ P waarde niet gegeven

Uit dit onderzoek blijkt verder dat de samenstelling van de melk niet verschillend is tussen de onderzochte proefbehandelingen wat betreft vet-, lactose- en ureumgehalten. Wel is er een effect gevonden op het eiwitgehalte in de loop van de lactatie. De eiwitgehalten in dit onderzoek zijn hoger onder condities van een korte dag verlengd met wit, blauw of geel licht versus een korte dag verlengd met rood licht. Hoewel enkele van de genoemde studies in Tabel 2 een verandering in vetgehalte of lactosegehalte hebben gevonden ten gevolge van daglengte verlenging (Phillips en Schofield, 1989; Miller et al., 1999), is een verandering in eiwitgehalte niet eerder gerapporteerd. Vervolgonderzoek zal moeten uitwijzen of dit effect reproduceerbaar is en wat de betekenis is van dit effect.

Uit dit onderzoek blijkt dat daglengteverlenging middels wit licht (dit is de combinatie van blauw, geel en rood licht) een groter effect heeft op het melatonine profiel dan blauw licht of geel licht. De verklaring hiervoor kan gezocht worden in het feit dat een hogere lichtsterkte een groter remmend effect heeft op de melatonineproductie. Zoals blijkt uit deze studie, stimuleert het blauwe licht in de avonduren, net als wit licht, een toename in gedragsactiviteit in de avonduren.

Daglengteveranderingen middels gekleurd licht hebben geen meetbare invloed op de kenmerken lichaamsgewicht, conditiescore en locomotiescore. Deze kenmerken werden beschouwd als secundaire uitleesparameters als indicatie voor diergezondheid en dierenwelzijn gedurende de proef. De data suggereren dat het experimentele design en de extra verlichting geen directe gezondheidseffecten heeft geïnduceerd. Anderzijds is het mogelijk dat de periode van de proefbehandeling relatief kort is geweest om veranderingen in deze kenmerken te observeren,

aangezien deze kenmerken door een groot aantal factoren worden beïnvloed (o.a. rantsoen, conditie van de vloer) en doorgaans slechts geleidelijk veranderen in de tijd.

De effecten van de proefbehandelingen op prolactine zijn niet eenduidig. Prolactine levels zijn bij alle proefbehandelingen verhoogd ten opzichte van de korte dag van de basisperiode. In de literatuur zijn aanwijzingen gevonden voor verhoogde prolactine concentraties onder lange daglengten ten opzichte van korte daglengten, hetgeen ook in verband gebracht wordt met een verhoogde melkproductie (Peters et al., 1981) en een versnelde ontwikkeling van jongvee (Peters et al. 1978b; Newbold et al., 1991). Een latere studie kon de relatie tussen daglengte, melkproductie en prolactine echter niet bevestigen (Marcek en Swanson, 1984). De verwachting voor deze studie, op basis van de overige resultaten, zou zijn geweest dat rood licht minder effect heeft op prolactine, maar de verhoging lijkt in dit geval in alle groepen gelijk te zijn. De afwezigheid van een effect van daglengteverlenging met wit, geel en blauw licht ten opzichte van rood licht zou kunnen worden verklaard door de lage temperaturen tijdens de proef (november tot maart). De uitscheiding van prolactine door de hypofyse wordt sterk gereduceerd door koude ($<0\text{ }^{\circ}\text{C}$; Peters et al., 1978b). De grilligheid van de individuele profielen bemoeilijkt de interpretatie van de data en de piektijden zijn mogelijk beïnvloed door de melktijden. In voorgaande studies is ook een grote variabiliteit in prolactine concentraties gevonden. Zowel circadiane (~24uur) als ultradiane (<24uur) ritmen zijn gerapporteerd, waarbij de prolactine ritmen piektijden vertoonden in de middag, of avond, of vroege ochtend, of een ritme geheel niet detecteerbaar was (zie review Lefcourt et al., 1994).

Rundveestallen worden doorgaans verlicht door middel van TL buizen, hogedruk-natriumlampen of metaalhalide lampen. Deze lampen hebben geen continu spectrum, maar zenden kleuren uit volgens een lijnenspectrum. Een aanzienlijk deel van de lichtopbrengst van deze lampen wordt bereikt in het rode deel van het spectrum en licht in het blauwe deel van het spectrum is vaak afwezig. Op basis van de huidige onderzoeksresultaten kan geconcludeerd worden dat de biologische klok van de koe relatief ongevoelig is voor rood licht. Dit impliceert dat stalverlichting efficiënter en energiezuiniger kan zijn wanneer de lichtsamenstelling in mindere mate gebaseerd is op het aandeel van het rode licht. Bovendien, aangezien de mens door een andere samenstelling van oogpigmenten vrij goed kan zien onder rood licht condities, is het gebruik van rode verlichting een geschikte methode voor nachtverlichting, om het biologische ritme en fysiologie van de koe zo min mogelijk te verstoren tijdens de donkerperiode.

5 CONCLUSIES

Uit dit onderzoek worden de volgende conclusies getrokken:

- De 24-uurs profielen van gedragsactiviteit en concentraties melatonine in het bloed vertonen aanpassingen aan een artificiële lange dag wanneer deze gerealiseerd is door verlenging van de dag met korte golflengten licht.
- De biologische klok van de koe is relatief ongevoelig voor rood licht.
- Bij het vergelijken van lichtbronnen is het aan te bevelen om behalve de verlichtingssterkte, ook het kleurenspectrum in acht te nemen om tot een goede keuze voor stalverlichting te komen.
- Idealiter gaat men op zoek naar een lichtbron waarin relatief meer korte golflengten (blauw, groen, geel) dan lange golflengten (rood) vertegenwoordigd zijn.
- Rood licht is de meest geschikte lichtbron om in te zetten als nachtverlichting wanneer de melkveehouder tijdens de duistere periode in de stal moet zijn.

6 PRAKTIJKTOEPASSING

Uit de onderzoeksresultaten blijkt dat een verlenging van de daglengte met behulp van kunstmatig licht in de ochtend- en avonduren een effect heeft op de biologische klok van de koe. Met andere woorden: met het lichtbeleid dat is toegepast in de proef, is het gelukt om een zomerdag na te bootsen. Dit was te meten aan de concentratie van het hormoon melatonine in het bloed, en aan de gedragsactiviteit van de koe, die beiden aanpassingen vertoonden aan de lange dag. Echter, de kleur licht die werd aangeboden is relevant gebleken, want de genoemde aanpassingen aan een lange dag vinden plaats onder wit licht, en niet onder rood licht. Dit betekent dat de biologische klok van de koe niet of nauwelijks gevoelig is voor rood licht. Ook is gevonden dat het eiwitgehalte van de melk achterbleef onder rood licht in vergelijking met de andere kleuren licht.

Wat betekenen de resultaten uit dit onderzoek voor de melkveehouder? De resultaten geven aanwijzingen over de manier waarop licht in de melkveehouderij toegepast kan worden om het functioneren van de koe te optimaliseren. Samengevat leiden de onderzoeksresultaten tot de volgende aanbevelingen.

1. Keuze voor stalverlichting: aanbevolen wordt om bij de keuze voor stalverlichting het spectrum van een lichtbron in acht te nemen. De meeste lampen zenden kleuren uit volgens een lijnspectrum. De optelsom van de verschillende kleuren die een conventionele lamp uitzendt wordt gezien als 'wit' licht. De kleurencombinatie van een lichtbron bepaalt de kleurtemperatuur van de lamp. Het deel van het spectrum dat rood licht uitzendt als onderdeel van een lichtbron zal geen effectieve bijdrage leveren aan het bijstellen of beïnvloeden van de biologische klok van de koe. De lichtsamenstelling van veel conventionele lichtbronnen, zoals metaalhalide lampen of hogedruk natriumlampen, bestaat voor een aanzienlijk deel uit rood licht, en kortere golflengten zijn ondervertegenwoordigd. Een groot deel van de energie die de lamp kost wordt dus niet effectief gebruikt. Idealiter zou men op zoek gaan naar een lichtbron waarin meer korte golflengten (blauw, groen, geel) dan lange golflengten (rood) uitgezonden worden.

In voorgaande onderzoeken is vaak, terecht, de nadruk gelegd op het bereiken van voldoende verlichtingssterkte in de stal. De huidige studie kan daaraan toevoegen dat het van belang is om het spectrum in acht te nemen. Hoewel het zeker aanbevolen wordt om veel licht in de stal te hebben, betekent een hogere verlichtingssterkte niet per definitie een effectievere lamp. Immers, rood licht telt wel mee op de luxmeter, maar levert relatief gezien geen effectieve bijdrage aan de activatie van de biologische klok van de koe. Bij het vergelijken van lichtbronnen moet daarom, behalve de verlichtingssterkte, het kleurenspectrum meegenomen worden om tot een goede keuze te komen.

Extra alertheid is vereist voor metingen die uitgedrukt worden in de eenheid 'lux'. Op dit moment wordt vaak het aantal 'lux' dat een lichtbron geeft als maatstaf genomen om te bepalen of een lichtbron geschikt is. Hierbij moet een kanttekening geplaatst worden. Wanneer de verlichtingssterkte uitgedrukt wordt in de eenheid 'lux' dan is dit een subjectieve maat, namelijk een maat die uitgaat van de gevoeligheid van de oogpigmenten van de *mens*. Het aantal lux zegt niets over de kleursamenstelling van de lichtbron, en sommige kleuren tellen zwaarder mee op de luxmeter dan andere kleuren, omdat de menselijke oogpigmenten gevoeliger zijn voor bepaalde kleuren dan voor andere kleuren. Het is daarom van belang om de verlichtingssterkte weer te geven in een objectieve eenheid, bijvoorbeeld W/m^2 .

2. Keuze voor nachtverlichting in de stal: wanneer het nodig is om de stal te verlichten in de nacht, wordt aanbevolen om hiervoor (monochromatisch) rood licht te gebruiken. Rood licht is de meest ideale lichtbron om in te zetten als nachtverlichting, omdat bij deze lichtkleur het bioritme van het melkvee zo min mogelijk gestoord wordt tijdens de donkerperiode, en de veehouder zelf toch voldoende zicht heeft. Hierbij moet opgemerkt worden dat het de voorkeur verdient om koeien een duistere nachtelijke periode te geven, waarbij ook de rode nachtverlichting uitgeschakeld is. De rode nachtverlichting is bedoeld als nachtelijke lichtbron voor de tijdsduur waarin de melkveehouder in de stal moet zijn.

3. Effect van lichtduur: uit de resultaten blijkt dat extra licht in de stal, in de vorm van een lange dag versus korte dag, zorgt voor een 'zomersignaal' in de biologische klok. Hoewel in deze proef een tendens is gevonden voor een betere persistentie bij een 'lange dag', is geen overtuigend effect gevonden op de gemiddelde melkhoeveelheid van de proefbehandelingen. Echter, een dergelijk 'zomersignaal' is de essentiële eerste stap in de fysiologie van de koe om tot een verhoogde melkproductie te komen [zie kader]. In voorgaande studies, uitgevoerd o.a. in de USA en Scandinavië (Tabel 2), zijn kleine productieverhogingen gevonden wanneer een lange dag werd toegepast versus een korte dag met behulp van conventionele verlichtingsbronnen. Duidelijk is dat in de huidige proef de verschillen in de melkproductie te klein zijn om hier statistisch gezien harde conclusies aan te verbinden. De tendens die gevonden is in de huidige studie, waar de persistentie onder rood licht achter lijkt te blijven ten opzichte van wit, geel en blauw licht, komt overeen met de verwachting van de onderzoekers, maar vervolgonderzoek met grote groepen koeien is nodig om hier uitsluitel over te geven.

Uitgelicht: welke rol speelt de biologische klok in de natuur?

De biologische klok wordt gevormd door een groep cellen in de hersenen en zorgt ervoor dat dieren zich kunnen aanpassen aan het dag-nacht ritme op aarde, en tevens ook aan het ritme van de seizoenen. De jongen van de meeste dieren worden in de natuur geboren in het voorjaar, omdat de omstandigheden (zoals voedselbeschikbaarheid, temperatuur, etcetera) dan de gunstigste overlevingskansen bieden. Dit betekent dat processen zoals voortplanting en melkproductie op het jaargetijde afgestemd moeten worden. De biologische klok krijgt via pigmenten in het oog signalen binnen over de lichtomstandigheden in de buitenwereld, en is op deze manier in staat om de daglengte te 'meten'. De biologische klok regelt de aanmaak van het hormoon melatonine tijdens de donkere nacht. Melatonine fungeert als 'boodschapper' voor tal van fysiologische processen in de rest van het lichaam. Als de dagen kort zijn (winter) wordt melatonine gedurende een lange tijd afgegeven (lange winternacht); als de dagen lang zijn (zomer) wordt melatonine gedurende een korte tijd afgegeven (korte zomernacht). Op deze manier zorgt de biologische klok ervoor dat processen zoals voortplanting, wintervacht, melkproductie en het grootbrengen van jongen op het juiste moment geregeld worden, zodat het lichaam zich kan aanpassen aan de omstandigheden van de omgeving.

7 REFERENTIES

- Biewenga G, Winkel A (2003) Licht nader belicht; effecten van licht op dierprestaties en gedrag van melkvee. *PraktijkRapport Rundvee 34*, Animal Sciences Group, Wageningen Universiteit en Research Centrum, 35p.
- Bilodeau PP, Petitclerc D, Pierre NSt, Pelletier G, St Laurent GJ (1989) Effects of photoperiod and pair-feeding on lactation of cows fed corn or barley grain in total mixed rations. *J Dairy Sci 72:2999-3005*.
- Dahl GE, Elsasser TH, Capuco AV, Erdman RA, Peters RR (1997) Effects of a long day photoperiod on milk yield and circulating concentrations of Insulin-like Growth Factor-1. *J Dairy Sci 80:2784-2789*.
- Dahl GE, Buchanan BA, Tucker HA (2000) Photoperiodic effects on dairy cattle: a review. *J Dairy Sci 83:885-893*.
- Evans NM, Hacker RR (1989) Effects of chronobiological manipulation of lactation in the dairy cow. *J Dairy Sci 72:2921-2927*.
- Jacobs GH, Deegan JF, Neitz J (1998) Photopigment basis for dichromatic color vision in cows, goats, and sheep. *Vis Neurosci 15:581-584*.
- Lefcourt AM, Akers RM, Wood DL, Bitman J (1994) circadian and ultradian rhythms of peripheral prolactin concentrations of lactating dairy cows. *Am J Physiol 267 (Regulatory Integrative Comp Physiol 36): R1461-R1466*
- Muthuramalingam P, Kennedy AD, Berry RJ (2006) Plasma melatonin and insulin-like growth factor-1 responses to dim light at night in dairy heifers. *J Pineal Res 40:225-229*.
- Marcek JM, Swanson LV (1984) Effect of photoperiod on milk production and prolactin of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci 67:2380-2388*.
- Miller ARE, Stanisiewski EP, Erdman RA, Douglass LW, Dahl GE (1999) Effects of long daily photoperiod and bovine somatotropin (Trobtest) on milk yield in cows. *J Dairy Sci 82:1716-1722*.
- Newbold JA, Chapin LT, Zinn A, Tucker HA (1991) Effects of photoperiod on mammary development and concentration of hormones in serum of pregnant dairy heifers. *J Dairy Sci 74:100-108*.
- Peters RR, Chapin LT, Emery RS, Tucker HA (1980) Growth and hormonal response of heifers to various photoperiods. *J Animal Sci 51:1148-1153*.
- Peters RR, Chapin LT, Leining KB, Tucker HA (1978a) Supplemental lighting stimulates growth and lactation in cattle. *Science 199(4331):911-912*.
- Peters RR, Tucker HA (1978b) Prolactin and growth hormone responses to photoperiod in heifers. *Endocrinology 103(1):229-234*.
- Peters RR, Chapin LT, Emery RS, Tucker HA (1981) Milk yield, feed intake, prolactin, growth hormone and glucocorticoid response of cows to supplemented light. *J Dairy Sci 64: 1671-1678*.
- Philips CJC, Schofield SA (1989) The effect of supplementary light on the production and behaviour of dairy cows. *Anim. Prod. 48:293-303*.
- Stanisiewski EP, Chapin LT, Tucker HA (1984) The effect of lamps with different spectral properties on prolactin release in prepubertal bulls. *Proc Soc Exp Biol Med 175:226*.
- Tucker HA, Petitclerc D, Zinn SA (1984) The influence of photoperiod on body weight gain, body composition, nutrient intake and hormone secretion. *J Anita Sci 59:1610*.

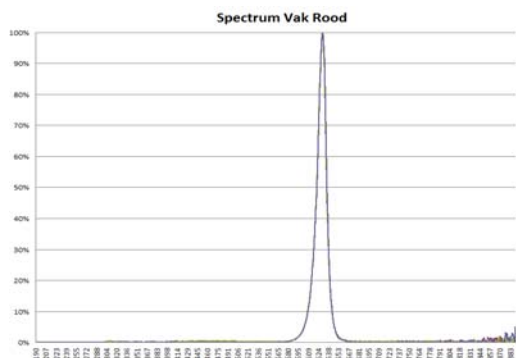


Met dank aan alle samenwerkende partners voor hun inzet in dit project:

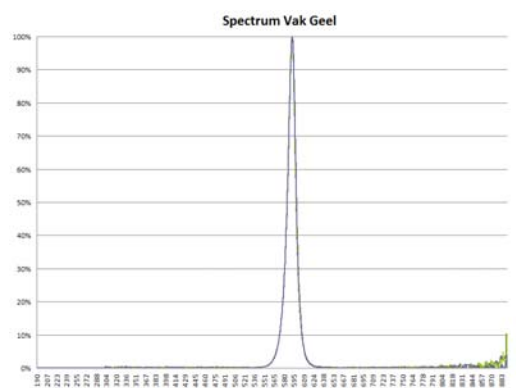
G. Biewenga, A. Winkel, W. Ouweltjes [**Wageningen UR Livestock Research**]; alle medewerkers van Nij Bosma Zathe, J.L. Zonderland, J. Postma, F. Schuurmans [**Melkveeproefbedrijf Nij Bosma Zathe**]; C.J. van den Dool, C. Dubbeld, B. van Meurs [**Agrilight B.V.**]; Prof R. Bruckmaier [**Veterinary Physiology, University of Bern**]; Dr. S. Peirson, Prof R. Foster [**Nuffield Laboratory of Ophthalmology, University of Oxford**]; Prof J.H. Meijer, H. Duindam, Prof T. Stijnen, A. van den Berg [**Leids Universitair Medisch Centrum**].

8 BIJLAGEN

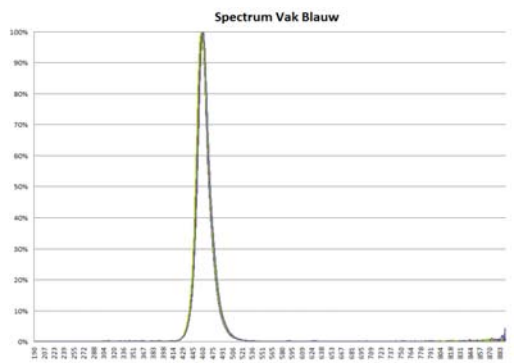
Bijlage A Relatieve spectral power versus golflengte van de LED verlichting



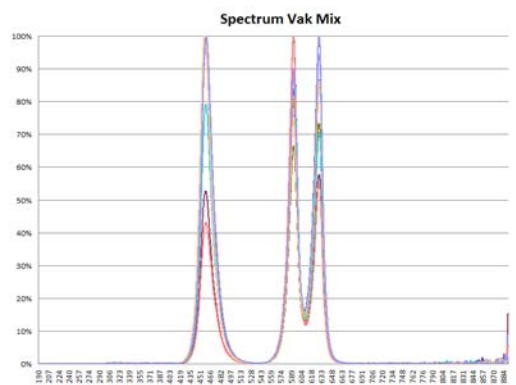
groep 3 (rood licht)



groep 2 (geel licht)



groep 4 (blauw licht)



groep 1 (mix van rood, geel en blauw licht)