

Effect van wisselende grassamenstelling en bijvoeding op de methaanemissie bij grazend rundvee

L. Mbanzamihigo¹, V. Fievez¹, L. Carlier² and D. Demeyer¹

1. Motivatie en objectieven van het project

De zorg omtrent de globale opwarming door een toename van de broeikasgassen in de atmosfeer neemt toe waarbij meer aandacht wordt besteed aan de reductie van de methaanuitstoot (IPCC, 1966 ; Hansen et al., 1996, 1999). Door zijn relatief korte levensduur (10 jaar) en zijn opwarmingseffect dat 21 keer hoger wordt geschat dan dat van koolstofdioxide, komt methaan vooreerst in aanmerking voor controle.

De bijdrage vanwege de landbouw, in hoofdzaak van de rundveehouderij, wordt geschat op 45 resp. 60 % van de totale methaanemissie, respectievelijk in Europa en België (Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling OESO, 1998). Natuurlijk zijn deze waarden slechts schattingen omdat er geen methode beschikbaar was voor de kwantificering van de methaanemissie van grazende herkauwers. De evaluatie, gebaseerd op het gebruik van zwavelhexafluoride (Ulyatt et al. 1999) en de micro-meteorologische methode (Harper et al. 1999) duren zeer lang (8 tot 12 maanden). Overeenkomstig het Kyoto protocol (1997) moeten de EU lidstaten de productie van broeikasgassen met ten minste 8 % verminderen in de loop van de eerste decade van het derde millennium.

Een eerste objectief van dit project was dan ook de ontwikkeling van een eenvoudige, goedkope en precieze methode voor meten van de methaanuitstoot door herkauwers.

Methaanproductie door herkauwers betekent ook een belangrijk verlies aan voederenergie. Verschillende antibiotica, ionophoren en andere chemische inhibitoren van methanogenese werden dan ook bestudeerd en uitgetest (Mbanzamihigo et al. 1995, 1996 ; Van Nevel en Demeyer, 1996). De pens van herkauwers is echter een geïntegreerd systeem, waardoor manipulatie van zijn metabolisme geassocieerd is met negatieve effecten op voederopname, ruwvezel afbraak en microbiële groei, terwijl bepaalde onderzoekers (Russel and Martin, 1984 ; Immig et al., 1995) bovendien enkel tijdelijke effecten van additieven op methaaninhibitie vermeldden. Bovendien is, omwille van het wantrouwen van de consument bij het gebruik van chemische producten in de veevoeding, de interesse voor voedings- en biologische strategieën ter controle van de methanogenese toegenomen. Het gebruik van vetten als methaaninhibitoren was beloftevol maar bij meer dan 5 % vet in het rantsoen verminderde de afbraak van celstof (Broudiscou et al., 1990 ; Machmuller et al., 1998). Het Intergouvernementele Panel voor de Klimaatsverandering (IPCC) (1996) beklemtoont dat de

verbetering van diervoeding en voedersysteem één van de meest beloftevolle wegen is om de methaanemissie door de landbouw te verminderen.

Stikstofbemesting van grasland wordt aangewend om de biomassa en het eiwitgehalte in het gras te verhogen. In ons laboratorium werd aangetoond dat (Demeyer and Van Nevel, 1979) *in vitro* aangetoond dat eiwitten minder methaan produceren dan koolhydraten. Dit werd bevestigd door Cone en Van Gelder (1999). Verhoging van het ruw eiwitgehalte in gras door stikstofbemesting zou dus tot een verlaging van de methaanproductie in de pens kunnen leiden. Bovendien zou optimalisatie van de microbiële groei, de fermentatie van organische materiaal in de pens tot vluchtige vetzuren en methaan, kunnen 'heroriënteren' naar een verhoogde microbiële synthese (Leng and Nolan, 1984 ; Beever, 1993). Een synchronisatie van de stikstof en de energie aanvoer in de pens zou de microbiële groei bevorderen (Sinclair et al., 1993) en op die manier kunnen resulteren in een verlaagde methaanemissie uit de pens. Een tweede doel van dit project bestond er dan ook in deze hypothetische effecten van stikstofbemesting van de weide op zowel methanogenese als efficiëntie van stikstof benutting experimenteel te onderzoeken.

2. Experimenteel opzet en activiteiten

In dit project was het de bedoeling een eenvoudige en goedkope methode te ontwikkelen voor de bepaling van de methaanuitstoot van grazende koeien en deze te onderzoeken in relatie tot:

- * de stikstofbemesting : bemesting kan verschillen in chemische samenstelling van gras veroorzaken (eiwit, suikers, ruwvezel), die veranderingen in de methaanproductie kunnen induceren (Kirchgeßner et al., 1955).

- * het groeistadium en –seizoen : fysische en chemische karakteristieken veranderen met het groeistadium en het seizoen (Carlier en Andries, 1978), hetgeen seizoenale veranderingen in de methaanemissie kan induceren (Peryaud en Astigarraga, 1998).

- * de zodesamenstelling: bemesting en groeiseizoen kunnen de botanische samenstelling van de zode wijzigen (gras/klover verhouding) (Carlier, 1982, Davies et al., 1991 ; Whitehead, 1995), resulterend in verschillende concentraties aan secundaire metabolieten (vb. saponines) in de zode en dus ook in het rantsoen, wat de efficiëntie van de microbiële groei (Beever et al., 1986) en aantal protozoa (Wallace, 1993) en aldus eventueel de methaanexcretie kan wijzigen.

- * Bijvoeding en supplementatiesysteem : op gras gebaseerde rantsoenen veroorzaken bij de huidige intensieve melkproductiesystemen een onevenwicht tussen energie- en stikstofaanvoer voor de microbiële groei, hetgeen resulteert in belangrijke urinaire

stikstofverliezen (Peyraud and Astgarraga, 1998). Bijvoeding van energie (vb. maïskuilvoeder) vermindert dit onevenwicht (Van Vuuren et al., 1993) en zou de microbiële groei-efficiëntie kunnen optimaliseren (Kirschgeßner et al., 1995). Bovendien zou energiebijvoeding op synchrone wijze de microbiële groei bijkomend kunnen verbeteren (Sinclair et al. 1993). Tenslotte kan een verhoogde microbiële groei de methaanemissie verlagen (Leng and Nolan, 1984 ; Beaver, 1993).

* Om niet van methaanvervuiling te vervallen in stikstofvervuiling is naast de methaan emissie veel zorg besteed aan de evaluatie van de stikstofbenutting in dit project.

De proeven liepen over twee jaar (1999-2000) en werden uitgevoerd gedurende twee opeenvolgende begrazingsseizoenen (juni - juli vs augustus - september). Schapen werden als modeldieren gebruikt voor de methaanemissies. Tijdens het eerste jaar (1999) werd de invloed van de stikstofbemesting (150 N kg/ha/jaar) op de chemische en de botanische samenstelling van een gras-klaver gemengde zode en op de methaan- en N-emissie door de herkauwers bestudeerd. In het tweede jaar (2000) werden dezelfde parameters voor schapen en weidegras, bemest met twee stikstofniveaus (200 en 400 N kg/ha/j) bestudeerd. Omdat kon verwacht worden dat een hogere stikstofbemesting van gras (400 kg N/ha/j) een hogere urinaire stikstofuitstoot zou geven, werd een gesynchroniseerde en een niet gesynchroniseerde bijvoeding met maïskuilvoeder onderzocht. Een geïntegreerde benadering, waarin zowel de plant, de chemische samenstelling, de totale en pensvertering van het rantsoen, de N-benutting (microbiële groei en urinaire excretie), methaanemissie en pensfermentatiepatroon werden bestudeerd, werd voor dit onderzoek opgezet. Deze benadering is noodzakelijk voor een kritische evaluatie van de methaanexcretie en voor de interpretatie van de resultaten die een finaal advies beogen voor een optimaal geïntegreerd productiesysteem: optimale plantproductie gekoppeld aan een optimale benutting van het rantsoen met een lagere uitstoot (methaan en stikstof) bij herkauwers.

3. Materiaal en methoden.

3.1. Droge stofproductie en zodesamenstelling

Tijdens de proefperiode werd de weide in twee delen opgedeeld (eerste jaar : deel bemest met 150 kg N/ha/j en niet bemest deel; tweede jaar : deel bemest met 200 en deel bemest met 400 kg N /ha/j). Grasstalen werden in elk deel bemonsterd om de invloed van de bemesting op de botanische samenstelling (eerste jaar) en op de totale biomassa en chemische samenstelling (eerste en tweede jaar) te onderzoeken. De chemische samenstelling waaronder het gehalte

aan droge stof, as, ruw eiwit, celwand, zuur detergente vezel (ADF), ruwe celstof, ruw vet, totale suikers werd ontleed volgens de officiële AOAC methoden (1990). Het nitraatgehalte werd chromatografisch gemeten d.m.v. een anion specifieke kolom (AS 4A, Dionex, België).

3.2. Dieren, rantsoenen en verteringsparameters

Bij de proeven werden telkens 4 volwassen hamels gebruikt. Ze werden tijdens de proefperioden gehuisvest in metabolismekooien om de simultane metingen van opname, schijnbare en werkelijke verteerbaarheid, stikstofexcretie in de urine, verteringspatroon in de pens en fermentatieparameters te kunnen bepalen. De schapen werden vier maal daags *ad libitum* gevoederd (10 a.m., 4 p.m., 10 p.m. en 4 a.m.). De voederopname, het geweigerde gras en de uitgescheiden feces werden tweemaal per week verzameld en gewogen en een monster van 50 g werden genomen voor droge stofbepaling (70°C, 72h). Dit protocol en de dierenbehandeling werden goedgekeurd door het Ethische commissie voor gebruik en verzorging van proefdieren van de Gentse Universiteit (dossier nummer 99/23).

3.3. *In vivo* methaanproductie, pH, vluchtige vetzuren en ammoniakconcentratie

De pensfermentatie parameters werden tweemaal per week bepaald. Ethaan, een gas dat zich als methaan gedraagt, werd als merkgas gebruikt om de methaanproductie in de pens te evalueren (Moate et al. 1997). Ethaan (Air Liquide, Belgium), werd tussen 10 a.m. en 4 p.m. continu gedurende 6 uur aan 10 ml/minuut (dosimeter Brooks Instruments B.V., G/T 1000, Nederland) via de pensfistel geïnfuseerd. In preliminaire *in vitro* experimenten werd aangetoond dat de toevoeging van ethaan (% gasfase) geen effect had op het pensverteringspatroon en dat het niet werd geoxideerd. De totale hoeveelheid gas die uit de pensfistel van elk schaap werd gedreven, werd opgevangen in grote PVC kolommen (Van Nevel et al. 1970b en Mbanzamihigo et al. 1955). Op het einde van de gasopvang werd het pensgas, vermengd met ethaan en geproduceerd gedurende 6 of 12 h, bemonsterd (1ml) m.b.v. gasdichte spuit, en chromatografisch geanalyseerd voor methaan en ethaan. Omdat ethaan zich zoals methaan gedraagt, kan de totale methaanproductie in de pens (MPR) berekend worden uit de hoeveelheid ethaan geïnfuseerd in de pens (EIR) en de verhouding CH₄ (% v/v CH₄) en C₂H₆ (% v/v C₂H₆) in het opgevangen gas als volgt : $MPR(1) = (\% \text{ v/v CH}_4 / \% \text{ v/v C}_2\text{H}_6) * EIR (1)$. Methaan, geproduceerd tijdens 6 of 12 uur, werd als en vierde of de helft van de dagproductie beschouwd. Simultaan met de gasopvang werd de pensinhoud bemonsterd voor de pH, en bepalingen van de concentratie aan vluchtige vetzuren en

ammoniak. Tijdens het eerste seizoen van het eerste proefjaar, werden *in vitro* incubaties uitgevoerd om de *in vivo* resultaten te evalueren.

3.4. *In sacco* afbreekbaarheid en passagesnelheid uit de pens

Eén maal per week werd de *in sacco* afbreekbaarheid gemeten door 2.0 gram monster in polyamide zakjes (Solana, Edegem, België, maaswijdte 37-50µm) in de pens te hangen. Een zakje werd niet geïncubeerd en werd onmiddellijk gewassen ter bepaling van de oplosbare fractie, terwijl de geïncubeerde zakjes op verschillende tijdstippen uit de pens werden gehaald en gewassen in een mini wasmachine, daarna gedroogd en gewogen voor de bepaling van de afgebroken droge stof. De passagesnelheid werd bepaald met Cr geïmpregneerd hooi (Uden et al., 1980). Uit de *in sacco* afbreekbaarheid en de passagesnelheid, werd de effectieve afbreekbaarheid berekend volgens de methode van Orskov en McDonald (1979).

3.5. Statistische berekeningen

Het effect van de stikstofbemesting op de bestudeerde parameters werd statistisch geëvalueerd m.b.v. een ANOVA-tabel, volgens het Algemene Lineaire Model (GLM) met bemesting, seizoen en dieren als hoofdfactoren. De Duncan test werd gebruikt om statistische verschillen tussen dieren vast te stellen. Bij een tweede benadering werd een enkelvoudige ANOVA gebruikt om dier- en seizoensinvloeden onafhankelijk van de behandeling (stikstofbemesting) te evalueren. Alle testen werden uitgevoerd met het statistisch SPSS programma (software for Windows, release 9.0, SPSS, Inc., USA). De resultaten zijn als gemiddelden met standaardafwijkingen weergegeven en significantie werd bepaald bij $P < 0.05$.

4. Resultaten en bespreking

4.1. Eerste jaar (1999)

4.1.1. Droge stofproductie, botanische en chemische samenstelling van de weide

In vergelijking met de controle (niet bemeste weide), verhoogt een bemesting met stikstof de totale drogestof productie per ha én het aandeel van het raaigras daarin ten koste van het aandeel witte klaver. Daarbij is bovendien sprake van een duidelijke seizoensinvloed. Vandaar dat gemiddeld in de vroege zomer (juni - juli : seizoen 1) bij een gift van 150 kg N/ha/j. de droge stofproductie verhoogde met 29% met een halvering van het aandeel witte klaver. In de nazomer (augustus - september : seizoen 2), verhoogde de droge stofproductie met 46% met een vermindering van slechts 10% witte klaver. Het seizoenseffect op de

biomassa productie was meer uitgesproken dan de invloed van de bemesting omdat de droge stofproductie per ha in de eerste periode tweemaal hoger was dan in de tweede periode, onafhankelijk van de behandeling.

Bij de chemische samenstelling van het gras ging de aandacht naar sleutelcomponenten die direct of indirect met methaan productie te maken hebben : ruw eiwit, celwand, oplosbare koolhydraten, ruwe celstof en ruw vet. De stikstofbemesting wijzigde het ruw eiwitgehalte in het gras niet noemenswaardig (seizoen 1 : van 12.2 tot 13.8% ; seizoen 2 : 21.9 tot 23.2%) in elk seizoen, terwijl de totale productie aan ruw eiwit toenam met 46 en 53%, respectievelijk in seizoen 1 en 2. Dit alles heeft te maken met het verdunningseffect van het in het gras aangemaakte ruw eiwit over de totale droge stofproductie. Er werd geen significante invloed van de stikstofbemesting op het totale celstofgehalte vastgesteld (seizoen 1 : van 49.5 tot 49.4% NDF; seizoen 2 : van 58.7 tot 60.8% NDF). Ook hier werd opnieuw een zeer sterke seizoensinvloed vastgesteld. Het nitraatgehalte nam sterk toe in functie van de stikstofbemesting (seizoen 1 : van 55 tot 250 ppm ; seizoen 2 : van 1402 tot 3475). Op het gehalte aan wateroplosbare koolhydraten had de stikstofbemesting geen invloed (seizoen 1 : 13.4 tot 14.1% ; seizoen 2 : 5.0 tot 4.9%). Algemeen was het vetgehalte in het gras laag (4.5%) en dit werd niet beïnvloed door stikstofbemesting of seizoen. Deze bevindingen bevestigen de vaststellingen van Carlier et al. (1981).

4.1.2. Methaan emissie en grasvertering in de pens

Noch het niveau van de stikstofbemesting, noch het seizoen hadden invloed op de *in vivo* methaanemissie per kg opgenomen en verteerde droge stof en op het fermentatiepatroon van vluchtige vetzuren in de pens, hetgeen door de *in vitro* resultaten werd bevestigd. Het is verrassend dat er tussen de twee verschillende periodes in het graasseizoen (juni/juli vs. augustus/september) géén verschil in methaanproductie werd vastgesteld, niettegenstaande het duidelijke verschil in ruw eiwitgehalte (13% in seizoen 1 t.o.v 22.5% in seizoen 2). Er werd wel een duidelijke dierinvloed waargenomen: bij alle rantsoenen produceerde één dier gemiddeld minder methaan (20.3 ± 3.1 liter/kg opgenomen droge stof) dan de drie andere (27.6 ± 4.1 liter/kg opgenomen droge stof). De lagere methaanproductie van dat dier was gekoppeld aan de lagere dagelijkse pH in de pens (5.92 vs 6.52), een hogere concentratie aan vluchtige vetzuren (135.5 vs 97.6 mmol/l), een lagere afbraaksnelheid (4.2 vs 7.2%/h), induceerden een significant ($P < 0.001$) lagere effectieve droge stofafbraak in de pens (61.7 vs 68.4) terwijl de totale (fecale) schijnbare droge stofafbraak vergelijkbaar was met die van de andere schapen (87.5 vs 87.1). Er was ook geen verschil tussen de schapen voor de totale

schijnbare verteerbaarheid (76.8). Men zou verwachten dat de lagere methaanproductie bij het ene schaap alleen te wijten is aan de lagere effectieve droge stofafbraak, nochtans de *in vivo* methaanproductie, berekend per kg effectief afgebroken droge stof in de pens, vertoont een bleef ook behouden tijdens de *in vitro* incubaties. Dit doet vermoeden dat dierverschillen zich situeerden ter hoogte van verschillen in microbiële populatie in de pens. De methaanuitstoot van elk schaap werd op jaarbasis geschat en vergeleken met de methaanproductie berekend met de vergelijkingen aanbevolen in de IPCC inventaris (IPCC, deel 1 en 2, 1996). Alhoewel alle schapen hetzelfde rantsoen kregen, produceerde één schaap duidelijk minder methaan wat aanleiding gaf tot wezenlijke verschillen met de IPCC waarden. Voor de drie andere schapen kwamen de door ons bepaalde waarden zeer goed overeen met deze berekend uit de IPCC formules (7.4-8.5 kg methaan/dier/jaar).

4.1.3. Stikstofefficiëntie

Een vergelijking tussen eiwit- en drogestof afbraak in de pens geeft een aanduiding over het mogelijke onevenwicht tussen stikstof en energie. In de proeven werd géén eiwittekort vastgesteld. Integendeel was er een stikstofoverschot (>165 g eiwit per kg afgebroken droge stof), dat bovendien meer uitgesproken was op het einde in vergelijking met het begin van het groeiseizoen van het gras. Dit stikstofoverschot gaf aanleiding tot een minder efficiënte N-benutting door de herkauwer met een hogere urinaire stikstofuitscheiding.

4.1.4 Effect van klaver saponines op de methaanproductie

Een *in vitro* proef met pensinhoud en diverse hoeveelheden saponines, geëxtraheerd uit klaver, werd uitgevoerd. Na incubatie werden methaan en vluchtige vetzuren bepaald en protozoa geteld. De resultaten vertonen een exponentiële daling van de relatieve (in verhouding de vluchtige vetzuren) methaanproductie bij een lage dosis klaver en een lager protozoa aantal bij alle dosissen. Voor dosissen hoger dan 6-9 mg/ml, verminderden de gas en vluchtige vetzurenproductie en de productie ervan werd zelfs volledig geïnhibeerd bij 24 mg/ml. Omdat klaversaponines bekend zijn als triterpenoïdale glycosiden (Sakamoto et al. 1992) spreken deze resultaten de algemene opinie tegen als zouden triterpenoïdale saponinen geen antibacteriële activiteit vertonen (Hostettman and Martson, 1995 ; Lu and Jorgensen, 1987).

4.2. Tweede jaar (2000)

4.2.1. Droge stofproductie en chemische samenstelling van het gras

In vergelijking met 200 kg stikstof/ha/jaar bracht een bemesting met 400 kg op een raaigrasweide een verhoging van de droge stofproductie teweeg van 70 % in juni en een verdubbeling in augustus. Zoals algemeen aanvaard is het effect van een stikstofbemesting groter in het eerste deel van het grasseizoen, want inderdaad werd reeds na 22 dagen hergroei was eenzelfde droge stofproductie bereikt in vergelijking tot het tweede deel van het seizoen voor het lage stikstofniveau van 200 kg/ha/j, terwijl dit voor het hoge stikstofniveau van 400 kg reeds na 17 dagen hergroei werd bekomen. Zoals uit vroegere experimenten bleek, veroorzaakte een hogere stikstofbemesting een hoger ruw eiwitgehalte in de twee delen van het seizoen (20.1 vs 13.6 en 15.7 vs 13.1). Dit hoger ruw eiwitgehalte ging gepaard met een lager gehalte aan oplosbare koolhydraten (10.8 tot 7.3 % en 16.3 tot 12.7 %) en een hoger nitraatgehalte (186 tot 2697 ppm en 211 tot 2452 ppm), terwijl het celwandgehalte niet significant beïnvloed werd (49.7 vs 50.2 % en 50.9 vs 52.7 %).

4.2.2. Methaanemissie en verteerbaarheid van het gras in de pens

In het eerste deel van het graasseizoen gaf de 200 kg stikstofbemesting per jaar en per ha een verhoging in methaanproductie (20-40%) per kg opgenomen droge stof. De hogere methaanproductie werd echter voornamelijk veroorzaakt door een lagere opname, vnl. door de verhoogde opname van twee schapen (stijging van 25-70 %) bij gras van een hoger bemestingsniveau. Het gebrek aan direct effect van stikstofbemesting op de methaanemissie werd bevestigd door *in vitro* resultaten. De hogere opnamen induceren hogere passagesnelheden, een verlaagde effectieve degradeerbaarheid en op die manier een lagere methaanproductie in de pens. Bovendien induceert de verschuiving van de vertering van de pens naar de dikke darm een lagere totale methaanemissie omdat methaanproductie gedeeltelijk vervangen wordt door reductieve acetogenese in dit laatste deel van het verteringsstelsel. Er werd geen duidelijke invloed op de concentratie aan vluchtige vetzuren waargenomen, hetgeen bevestigd dat de lagere methaanemissie effectief te wijten is aan een verschuiving van de vertering van de pens naar de lagere delen van het verteringstraject. In het tweede deel van het graasseizoen werd geen invloed van de stikstofbemesting op de methaanemissie vastgesteld, evenmin als een verschil in grasopname.

4.3.3. Strategieën voor bijvoeding en de emissie van methaan

Er werd geen significant verschil gevonden tussen gesynchroniseerde en niet gesynchroniseerde bijvoeding in methaanemissie per kg opgenomen droge stof (26.9 vs 27.6 liter). Er werd verondersteld dat bij synchroon aanbod van stikstof en energie in de pens, een

groter deel van het effectief gedegrademd materiaal in de pens zou worden gebruikt voor microbiële groei en er aldus minder organische stof schijnbaar zou worden gefermenteerd, wat bijgevolg zou aanleiding geven tot een verminderde methaanproductie. De afwezigheid van een synchronisatie-effect op de microbiële groei in de pens en bijgevolg op de methaanproductie zou kunnen verklaard door de relatief lage afbraaksnelheid van maïskuilvoeder, waardoor het verschil tussen gesynchroniseerde en niet gesynchroniseerde bijvoeding gemaskeerd wordt.

4.3.4. Stikstofefficiëntie

Een verhoogde N-bemesting geeft aanleiding tot hoge urinaire N-verliezen door een inefficiënt gebruik van de stikstof in de pens. Deze hoge urinaire N-verliezen konden worden voorspeld op basis van de OEB-waarde. Een verlaging van de OEB-waarde door supplementatie van fermenteerbaar organisch materiaal of door voeding van gras van een lager bemestingsniveau of van hoog bemest gras na een langer aantal groeidagen zal een evenredige verlaging van de urinaire N-excretie induceren. Bovendien zijn dierverschillen in urinaire ureumuitstoot op te merken (voor eenzelfde OEB-waarde). Bijgevolg kan een geïntegreerde evaluatie van de OEB-waarde van het rantsoen en het melkureumgehalte per koe of per lactatiegroep aanleiding geven tot een voorstel voor rantsoenaanpassing van deze lactatiegroep ter verbetering van de N-benutting door de grazende herkauwer.

In het onderzoek naar het effect van synchronisatie van energie- en N-aanbod in de pens kon onder onze experimentele omstandigheden geen toename in microbiële groeiement worden vastgesteld. Er dient echter te worden opgemerkt dat voor hoog productieve dieren nog niet duidelijk is of de synchronisatie van energie- en N-aanbod in de pens niet van belang zou kunnen zijn.

5. Conclusies en aanbevelingen

5.1. Methode voor de bepaling van de methaanemissie

Een methode voor bepaling van de methaanproductie in de pensmaag werd toegepast, gebruik makend van ethaan als merkgas. Zij gaf resultaten die vergelijkbaar zijn met deze bekomen m.b.v. duurdere en meer gecompliceerde methoden (zwavelhexafluoride als merkgas of micro-meteorologische methode). Bepaling van organische stof, effectief afgebroken in de pens, naast concentraties aan vluchtige vetzuren in pensmaaginhoud passen

samen met de methaanproductie in het stoechiometrisch model van de pensfermentatie, ontwikkeld met behulp van *in vitro* incubaties (Demeyer, 1991).

5.2. Effecten van stikstofbemesting op grasland productie.

Een matige stikstofbemesting, toegepast op een gemengd grasbestand (raaigras/klaver) verhoogt de droge stofproductie ten koste van het klaveraandeel. In beide proeven (1999 en 2000) wordt in het eerste deel van het groeiseizoen de stikstof beter benut voor biomassa- en eiwitproductie.

5.3. Effect van stikstofbemesting op methanogenese.

Er werden geen duidelijke effecten van stikstofbemesting en dus van graseiwitgehalte vastgesteld op methaanproductie in de pensmaag, uitgedrukt per kg voeder organisch materiaal opgenomen of totaal (fecaal) verteerd, in tegenstelling met de hypothese. In beide experimenten was methanogenese in de pens meer afhankelijk van het proefdier dan van het rantsoen. In het tweede experiment kon deze diervariabiliteit verklaard worden door verschillen in grasopname. Een hogere grasopname veroorzaakt een verschuiving van de vertering van de pens naar de dikke darm, met behoud van eenzelfde totale (fecale) vertering. Dit resulteert in een lagere methaanproductie, daar het aandeel van de methanogenese in de dikkarmfermentatie sterk varieert maar steeds gevoelig lager ligt dan in de pensmaagfermentatie. Deze situatie bemoeilijkt de schatting van de methaanproductie uit verteerbaarheden van rantsoenen.

Nochtans kan algemeen besloten worden dat de verhoging van de droge stofproductie door stikstofbemesting een hogere veebezetting impliceert en bijgevolg een hogere methaanemissie per oppervlakte-eenheid. Individuele verschillen tussen dieren zijn belangrijk en verder inzicht in deze diervariabiliteit m.b.t. voederopname en plaats van vertering is nodig om

- de verschillen in voederefficiëntie te begrijpen
- scenario's uit te werken voor een matiging van de methaanemissie door dierselectie
- de betrouwbaarheid van de IPCC schattingen van methaanemissies van de veestapel te verhogen. Het betrekken van het voederopnameniveau in de schatting lijkt hierbij aangewezen.

In afwachting deze mogelijke verfijningen kunnen voor een schatting van de methanogenese de door het IPCC (1996) waarden uitgedrukt in kg/dier voor productiedieren gebruikt worden. Inderdaad is zowel de gemiddelde waarde voor schapen berekend uit onze resultaten (11.1 kg/dier/jaar) als de variabiliteit (variatiecoëfficiënt = 19%) gelijkaardig aan de waarde

voorgesteld door IPCC (methode 2) (1996): respectievelijk 11.7 en een toegestane afwijking van 20 %. Er is geen reden om aan te nemen dat deze conclusie anders zou zijn voor andere herkauwers.

5.4. Gras voeding en efficiëntie van de stikstof benutting.

Bij voeding op de weide of met gras dient met betrekking tot efficiëntie van stikstofbenutting de aanvoer van N afgestemd te worden op de N-opnamecapaciteit van pens micro-organismen (evenwichtige onbestendige eiwitbalansen, OEB=0) te worden nagestreefd. Het is inderdaad bekend dat en het werd in onze experimenten bevestigd dat een positieve OEB-waarde aanleiding geeft tot een evenredige stijging van de urinaire ureumuitstoot. OEB-waarden van grasgevoederde dieren kunnen worden verlaagd door een verlaagd N-bemestingsniveau, door latere maaidata van hoger bemest gras of door synchrone of asynchrone supplementatie van eiwitarme ruw- of krachtvoerders (bv. kuilmaïs).

Bij hogere opnameniveaus zal een verschuiving van de vertering naar de dikke darm aanleiding geven tot een daling van de productie van microbiële eiwit in de pens en bijgevolg een verlaagde aanvoer van microbiële eiwit naar de dunne darm, ondanks een verhoging van de efficiëntie van de microbiële groei in de pens. Indien eiwit een limiterende factor is voor de melkproductie, lijkt, in tegenstelling met het effect op methanogenese, deze verschuiving niet wenselijk.

6. Bibliografie

Association of Official Analytical Chemists, 1980. *Nutrition Research Reviews*, 11: 173-198. **Broudiscou, L. Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I., 1990.** *Arch. Tierernähr.*, 40: 329-337. **Carlier, L. und Andries, A. 1978.** *Das Wirtschaftseigene Futter* 24: 5-12. **Carlier, L., Limbourg, P., Behaeghe, T., Toussaint, B. et Andries, A. 1981.** *Revue de l'Agriculture*: 34: 479-490. **Carlier, L. 1982.** In EEC workshop on Grassland Production, FAL Braunschweig: 57-62. **Cone, J.W. and Van Gelder, A.H., 1999.** *Anim. Feed Sci. Technol* 76: 251-264. **Demeyer, D.I., 1991.** In, J.P. Jouany, ed., *Rumen Microbial Metabolism and Rumen Digestion*. INRA Editions, Paris, Cedex, 217-237. **Demeyer, D. and Van Nevel C. 1979.** *Ann. Rech. Vét.* 10: 277-279. **Hansen, J., Ruedy, R., Sato, M. and Reynolds., 1996.** *Res. Lett.*, 23: 1665-1668. **Hansen, J., Sato, M., Ruedy, R., Lacis, A. and Oinas, V., 2000.** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 97: 9875-9880. **Harper, L.A., Denmead, O.T., Freney, J.R. and Byers, F.M., 1999.** *J Anim. Sci.*, 77, 1392-1401. **Hostettmann, K. and Marston, A., 1995.** *Cambridge: Cambridge University Press, UK*, 1-12; 19-75: 122-174. **Immig, I., Fiedler, D., Van Nevel, C. and Demeyer, D.I., 1995.** *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 4: 68. **Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 1996.** *Technologies, policies and measures for mitigating climate change: IPCC, technical paper 1.* 99 pp. **Kirchgeßner, M., Windisch, W. and Müller, H.L., 1995.** *Proc. of the 8th International Symposium on Ruminant Physiology*, Germany. **Kyoto protocol, 1997.** *Kyoto protocol to the united nations framework convention on climate change 11th December 1997*, Kyoto, Japan. www.unfccc.de/. **Lu, C.D. and Joroensen, N.A., 1987.** *Journal of Nutrition*, 117: 919-927. **Machmuller, A., Ossowski, D.A., Wanner, M. and Kreuzer, M., 1998.** *Anim. Feed Sci. Technol*, 77: 117-130. **Mbanzamihigo, L., Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. 1995.** *Reprod. Nutr. Dev.* 35: 353-365. **Mbanzamihigo, L., Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. 1995.** *Anim. Feed Sci. Technol*, 28: 215-228. **Moate, P.J., Clarke, T., Davis, L.H. and Laby, R.H., 1997.** *J. Agric. Sci., Cambridge*, 129, 459-469. **Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 1998.** *Agricultural practices to reduce greenhouse gas emissions: overview and survey instruments.* COM / ENV / POC / AGR / CA (98) 149. **Orskov, E.R. and McDonald, I. 1979.** *J. Agric. Sci., Camb.* 92: 499-503. **Peyraud and Astigarra, 1998.** *Anim. Feed Sci. Technol*, 72: 235-259. **Russel, J.B. and Martin, S.A., 1984.** *J. Anim. Sci.*, 59: 1329-1338. **Sakamoto S., Kofuji, S., Kuroyanagi, A. and Sekita, S., 1992.** *Phytochemistry*, 31 (5): 1773-1777. **Sinclair, L.A., Garnsworthy, P.C. Newbold, J.R. and Buttery, P.J., 1993.** *J. Agric. Sci.*, 120: 251-263. **Uden, P., Colucci, P.E. and Van Soest, P.J., 1980.** *J. Sci. Food Agric.*, 31, 625-632. **Ulyatt, M.J., Baker, S.K., McCrabb, G.J. and Lassey, K.R. 1999.** *Austr. J. Agric. Res.* 50: 1229-1334. **Van Nevel, C.J., Demeyer, D.I., Henderickx, H.K. and Martin, J.A. 1970.** *Zeitschr. Tierphys. Tierernähr. Futtermittelk.* 26: 91-100. **Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I., 1996.** *Environ. Monit. Assess.*, 42: 73-97.