

## ALGEMEEN

- 1. Projecttitel**  
Relatie eigenschappen maïselwanden en fermentatiekarakteristieken in de pens van herkauwers
- 2. Programmatitel**  
Nvt.
- 3. Onderzoeks-/projectleider en trekkerinstituut**  
J.W. Cone, Animal Nutrition Group, Wageningen Universiteit, Postbus 338, 6700 AH Wageningen
- 4. Uitvoerende instellingen**  
Animal Nutrition Group, Wageningen Universiteit                      Dr. J.W. Cone, Prof. Dr. Ir. W. Hendriks  
Gewas- en Onkruidecologie, Wageningen Universiteit                      Prof. Dr. Ir. P.C. Struik.
- 5. Looptijd**  
Het betreft een AIO-project van 4 jaar. Start eind 2008 en einde in 2012.

## BESCHRIJVING

### 6. Aanleiding/Probleemstelling

Snijmaïs is een belangrijk ruwvoeder in de Nederlandse rundveehouderij. Het gewas wordt na inkuilen als ruwvoer gebruikt en heeft – vooral dankzij het hoge zetmeelgehalte in de kolf – een hoge verteerbaarheid. De verteerbaarheid van de rest van de plant, die vooral uit celwanden bestaat, is een stuk lager dan van het zetmeel en onduidelijk is welke factoren de verteerbaarheid bepalen. Het voorgestelde onderzoek in dit project zal zich richten op vragen waarom de ene celwand wel afgebroken wordt in de pens van herkauwers en de andere niet en waarom de ene celwand sneller wordt afgebroken dan de andere. De mate en snelheid van fermentatie in pensvloeistof zal in vitro onderzocht worden met de gasproductietechniek. Daarnaast ligt de nadruk op chemisch, anatomisch, histochemisch en structuuronderzoek, waarbij veelvuldig gebruik zal worden gemaakt van microscopisch (lichtmicroscop, scanning- en transmissie-elektronenmicroscop) onderzoek en andere, geavanceerde technieken om de weefsels te karakteriseren. Het doel is na te gaan welke eigenschappen van de weefsels in de plant bepalend zijn voor de snelheid en mate waarin maïstengelweefsel (ruwvoer) wordt afgebroken in de pens. Het gaat daarbij niet alleen om uit te maken welke weefseleigenschappen van de plant verantwoordelijk zijn voor verschillen in fermentatie-eigenschappen maar ook om een (moleculair-)biologische verklaring hiervoor te vinden. De resultaten van dit project kunnen leiden tot maïsrassen van een betere kwaliteit en met een hogere voederwaarde en dus een hogere opbrengst voor de melkveehouders.

### 7. Belang voor de melkveehouderij

Hoewel de resultaten van dit project pas op middellange termijn zichtbaar zullen zijn in de melkveehouderij, blijft het toch van het grootste belang om te blijven investeren in de ontwikkeling van betere maïsrassen in het bijzonder en meer optimaal ruwvoer in het algemeen. Onderzoek in de afgelopen decennia heeft geleid tot totaal andere ruwvoederrassen, met een veel hogere voederwaarde en rassen die veel meer tegemoet komen aan de behoeftes van de dieren. Onderzoek heeft geleid tot maïsrassen met een veel hogere opbrengst en een veel hoger aandeel zetmeel. Omdat men daarbij vooral gefocust was op opbrengst en kolfaandeel heeft dit onderzoek niet geleid tot een hogere en/of snellere verteerbaarheid van de restplant (voornamelijk celwanden). Door in dit project onderzoek te doen naar de oorzaken van verschillen in verteerbaarheid van de celwanden zal dit onderzoek leiden tot maïsrassen met een betere en snellere verteerbaarheid van de celwanden. Het voordeel voor de melkveehouder van het hebben van deze maïsrassen met een hogere voederwaarde moge duidelijk zijn. Maïsrassen met een hogere celwandafbraak zullen een hogere voederwaarde hebben, dus lagere kosten, lagere milieuemissies en betere prestaties van de dieren.

Het belang van dit onderzoek kan nog vergroot worden wanneer beperkingen gesteld gaan worden aan de import van veevoedergrondstoffen en de veehouder meer afhankelijk wordt van ruwvoer van eigen bodem. Ook zal de opkomende “bio-based economy” gepaard gaan met enorme reststromen

die voor een (groot) deel hun weg zullen vinden als veevoedergrondstoffen in de melkveehouderij. Ook bij deze reststromen is het groot belang dat de voederwaarde hoog is. Hoewel in het voorgestelde project onderzoek wordt gedaan aan maïs, zullen de resultaten van het onderzoek toegepast kunnen worden bij alle (ruw)voedergewassen.

## 8. Doel

Het belangrijkste doel van dit onderzoek is om inzicht te verkrijgen in de relatie tussen de eigenschappen van maïscelwanden en de fermentatiekarakteristieken in de pens, inclusief de snelheid van afbraak en de synthese van fermentatie-eindproducten. Tot op heden zijn veel vragen nog onbeantwoord om uit te maken welke eigenschappen celwanden moeten hebben voor een optimale fermentatie in de pens en hoe planteigenschappen de synthese van vluchtige vetzuren en de fermentatiekinetiek beïnvloeden. Er bestaan grote verschillen in de anatomie van planten, de structuur en chemische en fysische eigenschappen als gevolg van verschillende groeicondities.

Het onderzoek in dit project zal zich voornamelijk richten op de relatie tussen de eigenschappen van celwanden van maïs uit de stengel en in-vitro-pensfermentatie, gemeten met de gasproductietechniek. De eigenschappen van de verschillende weefsels zullen onderzocht worden met (elektronen-) microscopie, histochemie en geavanceerde chemische technieken om inzicht te krijgen in de achtergrond van verschillen in celwandstructuur en samenstelling tussen verschillende monsters, ook op moleculair niveau. Dit project zal niet alleen een relatie leggen tussen planteigenschappen en fermentatie-eigenschappen, maar zal ook inzicht verschaffen in de biochemische achtergrond van de gevonden correlaties. Hierdoor wordt nieuwe fundamentele informatie verkregen betreffende de invloed van fysiologische condities van maïs en de eigenschappen van maïsweefsels op de voederwaarde, zoals bepaald in vitro in pensvloeistof. De resultaten van dit project zullen leiden tot maïsrassen met een hogere en snellere afbraak van de restplant en dus een hogere voederwaarde, waardoor de veehouders kunnen beschikken over maïsrassen met eigenschappen die beter aansluiten bij de behoeftes van hun koeien.

Hoewel in dit project alleen onderzoek wordt gedaan aan maïs zal het project veel fundamentele kennis opleveren die ook gebruikt kan worden bij alle andere soorten van ruwvoer en plantaardige reststromen.

## 9. Resultaat

Het betreft een AIO-project voor 4 jaar, dat afgesloten zal worden met een promotie. Het proefschrift zal bestaan uit een serie wetenschappelijk publicaties en zal tevens aangeboden worden aan PZ. Daarnaast zal ieder jaar verslag worden gedaan van de voortgang van het onderzoek. Ook zullen de resultaten van het onderzoek zo snel mogelijk opgenomen worden in het Handboek Snijsmaïs en jaarlijks wordt tenminste één maal naar de praktijk gepubliceerd via de vakpers en via de website c.q. attentiemail van "Verantwoorde Veehouderij".

## 10. Methode

Middels dit onderzoek wordt inzicht verkregen in de relatie tussen planteigenschappen en fermentatie-eigenschappen in pensvloeistof en in de onderliggende mechanismen door een uitgebreide karakterisering van het plantenmateriaal en de fermentatieprocessen. In dit project worden maïsstengels gebruikt als model, omdat maïs een belangrijk ruwvoedergewas is en omdat maïs een robuuste plant is waar gemakkelijk mee gewerkt kan worden. Bovendien heeft maïs duidelijk herkenbare weefsels en cellen, die gemakkelijk gescheiden kunnen worden. Omdat er in maïs een geleidelijke afname in afbreekbaarheid is tussen internodia van de top naar de onderkant van de plant en ook binnen een enkel internodium, kunnen verschillen in celwandeigenschappen bestudeerd worden binnen een enkele plant, hetgeen de vergelijking zo objectief mogelijk maakt. De grootste verschillen in celwandeigenschappen en dus ook in afbreekbaarheid worden verkregen door verschillen in afrijping, waarbij het jonger materiaal beter afbreekbaar is dan het oudere. De chemische samenstelling zal onderzocht worden op anatomisch niveau met zowel de licht- als de elektronenmicroscopie, op histologisch niveau en met geavanceerde technieken, zoals pyrolyse massaspectrometrie, gaschromatografie, HPLC en/of NMR.

De in-vitro-fermentatieprocessen zullen onderzocht worden met de gasproductietechniek. Door de snelheid van gasproductie te meten van geïsoleerd maïsstengelweefsels of bepaalde stengelcoupes kan de afbraakkinetiek van de diverse weefsels en delen van de plant bepaald worden, evenals de vorming van vluchtige vetzuren. Er kan een correlatie gelegd worden tussen de eigenschappen van de plant en de in-vitro-afbraakkarakteristieken en vorming van eindproducten.

De eigenschappen van maïsstengelweefsels zullen veranderen tijdens de groei van een internodium, hetgeen microscopisch gevolgd zal worden, zowel voor als na incubatie in pensvloeistof. De eigenschappen van maïsweefsels zullen ook onderzocht worden op cellulair niveau tijdens de groei en ontwikkeling van de plant. Van belang hierbij is wanneer en in welke mate celwanden onverteerbaar worden en in welke mate dat tot uiting komt in de voederwaarde en de in-vitro-afbraak in pensvloeistof.

Samengevat zal het 4-jarig project bestaan uit de volgende onderdelen:

1. Anatomische, structurele, histochemische and chemische karakterisering van maïsstengelweefsels.
2. Relatie tussen verdeling van de verschillende weefsels en in vitro fermentatie, gemeten met de gasproductietechniek, en de gesynthetiseerde vluchtige vetzuren.
3. Variatie in weefseleigenschappen en fermentatiekarakteristieken binnen een maïsplant en binnen een internodium en over de internodia.
4. Variatie in weefseleigenschappen en fermentatiekarakteristieken in de maïsplant gedurende het groeiseizoen en afrijping.
5. Een grondige karakterisering van geselecteerde maïsweefsels met geavanceerde technieken (bv. PyMS, NMR, GLC, HPLC) en correlatie van deze resultaten met fermentatiekarakteristieken om inzicht te krijgen in de onderliggende biochemische processen die verantwoordelijk zijn voor het onverteerbaar worden van de maïscelwanden..

## 11. Literatuur

- Boon, E.J.M.C., Engels, F.M., Struik, P.C., Cone, J.W. (2005) Stem characteristics of two forage maize (*Zea mays* L.) cultivars varying in whole plant digestibility. II. Relation between in vitro rumen fermentation characteristics and anatomical and chemical features within a single internode. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences* 53, 87-109.
- Boon, E.J.M.C., Cone, J.W., Struik, P.C., Tamminga, S., Engels, F.M. (2007) Stem characteristics of two forage maize (*Zea mays* L.) cultivars varying in whole plant digestibility. III. Differences in anatomy, chemical composition and in vitro rumen fermentation parameters between internodes from top to base of the stem. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences* (In press).
- Boon, E.J.M.C., Engels, F.M., Struik, P.C., Cone, J.W. (2007) Development of fermentation characteristics throughout the growing season in a specific internode of the stem of two forage maize (*Zea mays* L.) cultivars differing in whole stem digestibility. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences* (In press).
- Buxton, D.R., Casler, M.D. (1993) Environmental and genetic effects on cell wall composition and digestibility. In: *Forage cell wall structure and digestibility*. Jung, H.G., Buxton, D.B., Hatfield, R.D., Ralph, J. (eds). ASA, CSSA, SSSA, USA. ISBN 0-89118-115-6.
- Carpita, N.C., Gibeaut, D.M. (1993) Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. Major review. *The Plant Journal* 3, 1-30.
- Casler, M.D., Jung, H.J.G. (2005) Relationships of fibre, lignin, and phenolics to in vitro fibre digestibility in three perennial grasses. *Anim. Feed Sci. Technol.* 125, 151-161.
- Cone, J.W., Engels, F.M. (1990) Influence of growth temperature on anatomy and in vitro digestibility of maize tissues. *J. Agric. Sci.* 114, 207-212.
- Cone, J.W., Engels, F.M. (1993) The influence of ageing on cell wall composition and degradability of three maize genotypes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40, 331 - 342.
- Dolstra, O., Medema, J.H., De Jong, A.W. (1993) Genetic improvement of cell-wall digestibility in forage maize (*Zea mays* L.). I. Performance of inbred lines and related hybrids. *Euphytica* 65, 187-194.
- Grabber, J.H. (2005) How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science* 48, 820-831.

- Iiyama, K., Lam, T.B.T., Stone, B.A. (1994) Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol.* 104, 315-320.
- Jung, H.G. (1989) Forage lignins and their effects on fibre digestibility. *Agron. J.* 81, 33-38.
- Jung, H.G., Deetz, D.A. (1993) Cell wall lignification and degradability. In: *Forage cell wall structure and digestibility*. Jung, H.G., Buxton, D.B., Hatfield, R.D., Ralph, J. (eds). ASA, CSSA, SSSA, USA. ISBN 0-89118-115-6.
- McCann, M., Bush, M., Milioni, D., Sado, P., Stacey, N.J., Catchpole, G., Defernez, M., Carpita, N.C., Hofte, H., Ulvskov, P., Wilson, R.H., Roberts, K. (2001) Approaches to understand the functional architecture of the plant cell wall. *Phytochemistry* 57, 811-821.
- Terashima, N., Fukushima, K., He, L.F., Takabe, K. (1993) Comprehensive model of the lignified plant cell wall. In: *Forage cell wall structure and digestibility*. Jung, H.G., Buxton, D.B., Hatfield, R.D., Ralph, J. (eds). ASA, CSSA, SSSA, USA. ISBN 0-89118-115-6.
- Wilson, J.R. (1993) Organization of forage plant tissues. In: *Forage cell wall structure and digestibility*. Jung, H.G., Buxton, D.B., Hatfield, R.D., Ralph, J. (eds). ASA, CSSA, SSSA, USA. ISBN 0-89118-115-6.
- Wilson, J.R., Hatfield, R.D. (1997) Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: consequences for fibre degradation by rumen microflora. *Austr. J. Agric. Res.* 48, 165-180.

#### BEHEERSASPECTEN:

##### 11. Begeleidingsstructuur/tussenrapportages:

De AIO zal begeleid worden door de onderzoekers van Wageningen Universiteit. Tevens zal er een begeleidingscommissie toezicht houden op de voortgang en kwaliteit van het onderzoek. Deze commissie zal samengesteld worden uit de groep van financiers.

##### 12. Samenwerking met andere organisaties en instellingen:

Het onderzoek is een samenwerking tussen de leerstoelgroepen Diervoeding en Gewas- en Onkruiddecologie (voorheen Agronomie) van Wageningen Universiteit. Er zal nauw worden samengewerkt met de financiers.

#### KOSTEN:

##### 13. Overzicht kosten en financiering (in € excl. BTW)

Het betreft een 4-jarig AIO-project. De kosten zijn voor de 4 jaar als volgt opgebouwd:

AIO-salaris	€	200.000
Materialen	€	50.000
Reizen	€	10.000
Begeleiding en ondersteuning	€	200.000

De kosten voor AIO-salaris, materialen en reizen, totaal € 260.000 worden neergelegd bij STW. Voor de kosten van begeleiding en ondersteuning, totaal € 200.000, wordt een financiële bijdrage gevraagd van PZ ter grootte van € 100.000 (€ 25.000 per jaar). Voor de overige € 100.000 wordt nog gezocht naar financiers.

#### Financiering:

	2008	2009	2010	2011	2012
STW			260.000		
PZ	5.000	25.000	25.000	25.000	20.000
Derden	5.000	25.000	25.000	25.000	20.000