

## **Anaerobe Fermentation von Grünlandbiomasse: Einfluss der botanischen Diversität auf Qualitätsparameter und die potentielle Methanausbeute**

J. Khalsa<sup>1</sup>, T. Fricke<sup>1</sup>, A. Weigelt<sup>2</sup>, M. Wachendorf<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UNIVERSITÄT KASSEL, GRÜNLANDWISSENSCHAFT UND NACHWACHSENDE  
ROHSTOFFE,

Witzenhausen, E-Mail: khalsa@uni-kassel.de

<sup>2</sup>UNIVERSITÄT LEIPZIG, SPEZIELLE BOTANIK UND FUNKTIONELLE BIODIVERSITÄT.

### **1. Einleitung und Problemstellung**

Extensives Grünland, das traditionell zu Tierernährungszwecken genutzt wurde, ist eine Landschaftsform mit wichtigen Ökosystemfunktionen, u.a. dem Erhalt von zahlreichen Tier- und Pflanzenarten. Trotzdem muss in Zukunft mit einem Rückgang dieser Diversität gerechnet werden, da besonders in den entwickelten Ländern die Ansprüche an Futterqualität weit über das hinausgehen, was extensive Grünlandbiomasse bereitstellen kann. Die Landwirte stehen somit vor der Entscheidung die Nutzung dieser Flächen zu intensivieren oder sich von den Flächen zurückzuziehen. In beiden Fällen muss mit einem Rückgang der Artenvielfalt gerechnet werden. Wie auch bei der Tierernährung spielen für eine mögliche bioenergetische Nutzung solcher Biomassen (durch anaerobe Fermentation) insbesondere die Rohfaser (XF)- und Rohprotein (XP)-Gehalte eine entscheidende Rolle. Wenn sich der Erhalt von Diversität und eine bioenergetische Nutzung sinnvoll kombinieren lassen, kann zumindest der Erhalt der Ökosystemfunktionen dieser Flächen gewährleistet und darüber hinaus möglicherweise auch ein finanzieller Anreiz für den Landwirt geschaffen werden.

In einer Studie von White *et al.* (2004) haben sich Diversitätseffekte bezüglich der Qualitätsparameter angedeutet und es konnte eine Abnahme von XP und eine Zunahme von XF mit steigender Artenzahl beobachtet werden. Allerdings beruhte dieses Experiment auf der Auswertung von mehreren Standorten, was eine Entkopplung dieser Aussage von Standorteinflüssen schwierig macht. Wäre es möglich diese Effekte als tatsächliche (standortungebundene) Diversitätseffekte zu beobachten, so könnte man die grundlegenden Zusammenhänge zwischen Vergäreigenschaften und Diversität (Artenzahl) besser verstehen.

Wie die Vergäreigenschaften und die Artenzusammensetzung/Artenzahl von extensiver Grünlandbiomasse zusammenhängen ist also eine bisher ungeklärte aber höchst relevante Frage, die für eine auf Erhalt von Diversität zielende Nutzung wesentlich ist.

In dieser Studie wurden deshalb die Sommer- und Herbstaufwüchse des Jena-Experiments aus den Jahren 2008 und 2009 auf ihre XF-, XP-, XL- und XA-Gehalte untersucht und mittels dieser die potentielle Methanausbeute der verschiedenen Artenzusammensetzungen ermittelt. Mit dem spezifischen Design des Jena-Experimentes ist es möglich den Einfluss einzelner funktioneller Gruppen auf die zu untersuchenden Parameter zu ermitteln und außerdem den Einfluss der Artenzahl hervorzuheben.

## 2. Material und Methoden

Pflanzenbestände aus dem Artenpool der Glatthaferwiesen wurden mit steigender Artenzahl (1 - 60 Arten) auf einer Fläche nahe dem Saale-Ufer bei Jena im Jahr 2002 etabliert. Im Vorfeld wurden die 60 Arten in vier funktionelle Gruppen (Gräser, Leguminosen, kleine und große Kräuter) unterteilt. Der Versuchsaufbau basiert auf einer vollständig randomisierten Blockanlage mit 82 Parzellen der Größe 20 x 20m. Auf diesen Parzellen wurden (in 4-facher Wiederholung) alle möglichen Kombinationen von Artenzahl x Anzahl funktioneller Gruppen realisiert. Zum Erhalt der Zielbestände wurden die Parzellen regelmäßig gejätet. Eine Düngung fand nicht statt (detailliertes Versuchsdesign siehe Roscher *et al.*, 2004). Von allen 82 Parzellen wurden in den Jahren 2008 und 2009, von den Sommer- als auch von den Herbstaufwüchsen, 300g Frischmasseproben (Stoppelhöhe 5cm) aus einem repräsentativen Bereich in der Kernzone der Parzelle genommen. Die geerntete Biomasse wurde bei 70°C 48 Stunden getrocknet und der Aschegehalt (XA) wurde nach Erhitzen bei 550°C bestimmt.

Zur Bestimmung der Rohfaser- (XF) und Rohfettgehalte (XL) wurden 100 der 164 Proben nach Standardmethoden untersucht und dann für eine Nahinfrarotkalibration (XDS Rapid Content Analyser, FOSS NIRSystems Inc., Laurel, USA) verwendet. Die Werte aller 164 Proben wurden nach Kreuzvalidation (XF:  $R^2 = 0.96$ , RPD = 3.68; XL:  $R^2 = 0.74$ , RPD = 1.70) vorhergesagt. Rohprotein (XP) wurde direkt von dem N-Gehalt abgeleitet ( $XP = N \times 6.25$ ), welcher mittels Elementaranalyse (vario MAX CHN, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Deutschland) bestimmt wurde. Die N-freien Extraktstoffe (NfE) wurden berechnet mit:  $NfE = 100 - XA - XF - XL - XP$ . Die Summe aus NfE und XF wurde als die Fraktion der Kohlenhydrate definiert.

Zur Berechnung des substratspezifischen Methanausbeute ( $CH_4_{sub}$ ) wurde die Methode der VDI-Norm 4630 leicht modifiziert, um die möglichen Unterschiede durch verschiedene botanische Zusammensetzungen der Substrate und die zwei Erntezeitpunkte mit zu berücksichtigen. Die Methode beruht auf den Konzentrationen der Weenderfraktionen (%TM), einem Verdauungskoeffizienten ( $D$ ) für jede Fraktion und dem potentiellen Biogasertrag ( $B$ ) der Kohlenhydrate, XL und XP. Die Werte für  $B$  wurden mittels einer stöchiometrischen Gleichung hergeleitet und können der VDI 4630 entnommen werden, genauso wie der mittlere Methangehalt des Biogases ( $M$ ) für die entsprechenden Fraktionen.  $CH_4_{sub}$  wird in Normliter pro kg oTM angegeben, welche sich auf die Normbedingungen von 273.2 K und 101.3 kPa beziehen:

$$CH_4_{sub} (l_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}) = (XF \times D_{(XF)} + NfE \times D_{(NfE)}) \times B_{(XF+NfE)} \times M_{(XF+NfE)} + XL \times D_{(XL)} \times B_{(XL)} \times M_{(XL)} + XP \times D_{(XP)} \times B_{(XP)} \times M_{(XP)}$$

Für diese Studien wurde  $D$  für jede Probe individuell berechnet um die dominierende funktionelle Gruppe, den Fasergehalt und den Schnitt zu berücksichtigen. Ermöglicht wurde dies durch lineare Regressionen basierend auf den DLG Futterwerttabellen (Tab. 1).

Die statistische Analyse wurde als Varianzanalyse (ANOVA) mit sequentiellen Fehlerquadratsummen (sequential sum of squares; Schmid *et al.*, 2007) durchgeführt. Der Block-Effekt (Block) wurde an erster Stelle in das Modell gestellt, so dass alle folgenden Parameter frei von denen im Block enthaltenen Varianzen, die durch Unterschiede in den Bodeneigenschaften und dem Flächenmanagement auftreten, interpretiert werden konnten. Die 60-Artenparzellen wurden lediglich als Referenzpunkt

für höchst mögliche Diversität genutzt, flossen aber in die ANOVA nicht mit ein. Außerdem mussten zwei Parzellen der Artenzahl=1 aus dem Datensatz, auf Grund von Etablierungsproblemen, entfernt werden.

Tab. 1: Lineare Regressionen für Grünlandbiomassen zur Herleitung von Verdaulichkeitswerten der Weenderfraktionen in Bezug auf Schnitzeitpunkt, Dominanz der funktionellen Gruppen (FGD) und des XF-Gehaltes (%TM).

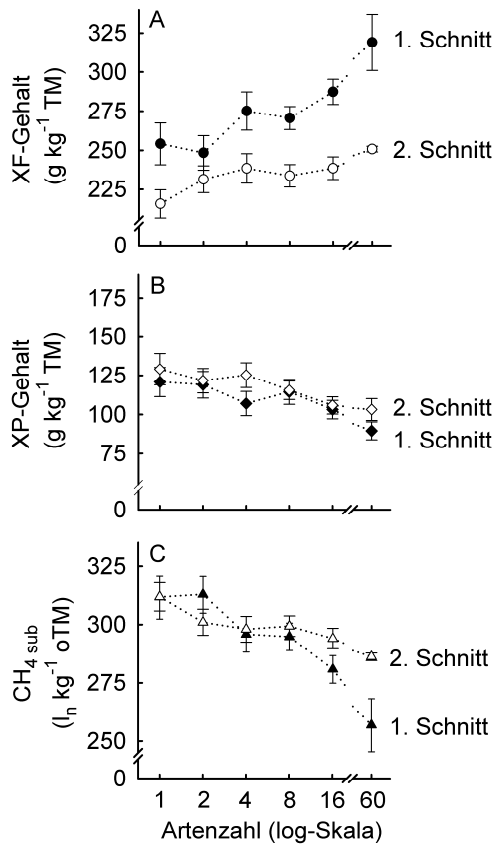
FGD	Fraktion	Linear Regression	R <sup>2</sup>	RSE
Gräser (> 70% der Biomasse), 1. Schnitt	XF	$D_{(XF)} = -0.98 \times XF + 102.3$	0.88	2.11
	NfE	$D_{(NfE)} = -1.27 \times XF + 107.8$	0.94	1.89
	XL	$D_{(XL)} = 0.26 \times XF + 57.7$	0.80	0.78
	XP	$D_{(XP)} = -1.07 \times XF + 96.5$	0.95	1.48
Gräser (> 70% der Biomasse), 2. Schnitt	XF	$D_{(XF)} = -0.54 \times XF + 85.9$	0.99	0.18
	NfE	$D_{(NfE)} = -0.52 \times XF + 83.0$	0.69	1.81
	XL	$D_{(XL)} = -0.99 \times XF + 86.4$	0.70	3.36
	XP	$D_{(XP)} = -0.85 \times XF + 89.5$	0.69	3.00
Leguminosen und Kräuter (> 30% der Biomasse), 1. Schnitt	XF	$D_{(XF)} = -1.75 \times XF + 123.7$	0.95	2.03
	NfE	$D_{(NfE)} = -2.42 \times XF + 136.2$	0.98	1.80
	XL	$D_{(XL)} = -0.14 \times XF + 61.9$	0.01	6.47
	XP	$D_{(XP)} = -0.87 \times XF + 93.8$	0.91	1.33
Leguminosen und Kräuter (> 30% der Biomasse), 2. Schnitt	XF	$D_{(XF)} = -1.21 \times XF + 101.0$	0.99	0.30
	NfE	$D_{(NfE)} = -1.67 \times XF + 113.3$	0.99	0.01
	XL	$D_{(XL)} = -1.02 \times XF + 73.4$	0.59	3.93
	XP	$D_{(XP)} = -0.92 \times XF + 93.7$	0.98	0.59

### 3. Ergebnisse und Diskussion

In der statistischen Auswertung wurde deutlich, dass das Vorkommen von Gräsern und Leguminosen eine entscheidende Rolle für den XF- und XP-Gehalt der Biomasse spielt. So war der XF-Gehalt in beiden Schnitten signifikant höher (beide  $p < 0.001$ ) wenn Gräser vorhanden waren und signifikant niedriger (1. Schnitt:  $p = 0.003$ ; 2.Schnitt:  $p = 0.007$ ) wenn Leguminosen mit in der Biomasse waren. Der Trend für den XP-Gehalt war genau umgekehrt aber ebenso signifikant in allen Fällen. Besonders deutlich wurden diese Trends beim Betrachten der Parzellen, die ausschließlich aus einer der jeweiligen funktionellen Gruppen bestand (Tab. 2). Interpretieren lässt sich der steigende XF-Gehalt durch hohe Artenzahl und das Vorkommen von Gräsern möglicherweise mit der Hypothese, dass die Nicht-Gras-Arten sich im zunehmenden Wettbewerb um Licht miteinander und insbesondere mit den Gräsern befinden und somit mehr Faserstrukturen bilden um ein höheres, vertikales Wachstum zu erlangen. Der sinkende XP-Gehalt mit steigender Artenzahl hängt sicherlich eng mit der N-Limitierung von hoch-diversen Systemen im Vergleich zu der höheren N-Verfügbarkeit in niedrig-diversen Systemen zusammen.

In Bezug auf die Artenzahl waren auch signifikante Effekte zu beobachten (Abb. 1), so nahm der XF-Gehalt in beiden Schnitten mit steigender Artenzahl zu (1. Schnitt:  $p = 0.001$ ; 2.Schnitt:  $p = 0.022$ ), wohingegen der XP-Gehalt mit steigender Artenzahl abnahm (1. Schnitt:  $p = 0.037$ ; 2.Schnitt:  $p = 0.001$ ). Somit nahm auch  $CH_4_{sub}$  mit steigender Artenzahl ab (1. Schnitt:  $p = 0.001$ ; 2.Schnitt:  $p = 0.004$ ), da der steigende XF-Gehalt zu immer mehr schwer verdaulicher Biomasse führt und der abnehmende XP-Gehalt maßgeblich für eine Abnahme der verdaubaren Energie steht.

Abb. 1: Veränderung der Qualitätszusammensetzung der Biomasse mit zunehmender Artenzahl. (A) zeigt den mittleren Rohfasergehalt (XF) und (B) den mittleren Rohproteingehalt (XP) inklusive Standardfehler, für jeweils den ersten und zweiten Schnitt. (C) zeigt die Veränderung des substratspezifischen Methanertrages ( $CH_4_{sub}$ ) mit steigender Artenzahl. Alle Werte sind Mittelwerte aus beiden Jahren.



In Anbetracht der Bruttogesamtenergie (Methanertrag pro Hektar), die von den verschiedenen Diversitätsstufen zu erwarten ist, zeigt sich, dass bei einer Wandlung durch Vergärung, eine steigende Artenzahl einen positiven Effekt auf die Energieausbeute haben würde (Abb. 2).

Dieser Zusammenhang resultiert maßgeblich aus der positiven Artenzahl-Biomasseertrag-Beziehung, die ausführlich in Khalsa *et al.* (2012) diskutiert wurde. Die zunächst negativen Effekte der abnehmenden Vergärbarkeit wurden somit durch den zu erwartenden Anstieg der Biomasse mit steigender Artenzahl kompensiert.

Die Unterschiede im Methanertrag pro Hektar zwischen den beiden Schnitten waren vergleichbar mit einer Studie von Amon *et al.* (2007) an einer extensiven Grünlandfläche mit zwei Schnitten und Hanglage, bei der der erste Schnitt etwa 65% zu dem Jahresmethanertrag pro Hektar beitrug und der zweite Schnitt etwa 35%.

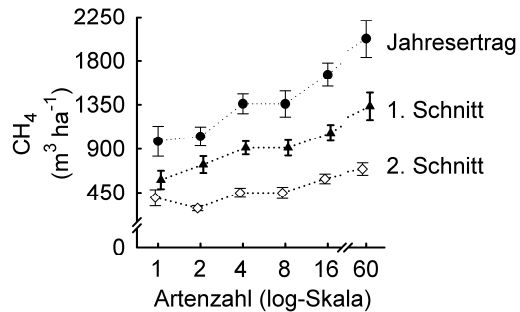


Abb. 2: Veränderung des flächenbezogenen Methanertrages mit steigender Artenzahl für beide Schnitte separat und als Summe der beiden Schnitte (Jahresertrag). Werte sind Mittelwerte aus beiden Jahren und die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler.

Tab. 2: Mittelwerte (g kg<sup>-1</sup> TM) der Rohfaser- (XF), Rohprotein- (XP), Rohfettgehalte (XL), stickstofffreie Extraktstoffe (NfE) und der substratspezifische Methanertrag (I<sub>n</sub> kg<sup>-1</sup> oTM) in den funktionellen Gruppen Monokulturen. Werte sind Mittelwerte aus beiden Jahren.

	Schnitt	Gräser		Leguminosen		kl. Kräuter		gr. Kräuter	
		Mittel	SD	Mittel	SD	Mittel	SD	Mittel	SD
XF	1.	321	± 18.2	235	± 37.2	218	± 24.7	258	± 35.7
	2.	262	± 9.3	208	± 23.7	229	± 34.7	200	± 22.7
XP	1.	71.7	± 6.1	162	± 28.5	135	± 12.9	115	± 17.3
	2.	99.4	± 13.3	175	± 24.9	106	± 21.9	108	± 9.8
XL	1.	16.4	± 2.6	20.8	± 3.0	21.2	± 1.39	20.2	± 2.3
	2.	29.3	± 3.7	23.0	± 3.9	22.5	± 6.0	22.8	± 2.7
NfE	1.	523	± 17.9	509	± 18.7	539	± 24.0	521	± 33.6
	2.	506	± 16.6	503	± 29.1	522	± 19.0	545	± 32.0
CH <sub>4</sub> sub	1.	270	± 8.4	325	± 30.7	336	± 19.1	304	± 27.7
	2.	289	± 4.1	321	± 16.2	300	± 24.5	317	± 14.4

#### 4. Schlussfolgerungen

Es konnten deutliche Diversitätseffekte (sowohl in Bezug auf Artenzahl als auch auf das Vorkommen einzelner funktioneller Gruppen) bezüglich der Qualitätsparameter XF und XP nachgewiesen werden, die zunächst nicht positiv für eine Energiegewinnung aus hoch-diversem Extensivgrünland sprechen (da CH<sub>4</sub> sub dadurch geringer wird). Jedoch kann mit einer Kompensation dieser Effekte durch den steigenden Biomassertrag gerechnet werden, so dass bei der Bruttogesamtenergie wieder ein positive Diversität-Bioenergie-Beziehung zu erkennen ist.

#### Literatur

- AMON, T., AMON, B., KRYVORUCHKO, V., MACHMÜLLER, A., HOPFNER-SIXT, K., BODIROZA, V., HRBEK, R., FRIEDEL, J., PÖTSCH, E., WAGENTRISTL, H., SCHREINER, M. und ZOLLITSCH, W. (2007): Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. *Bioresource Technology* 98, 3204–3212.
- KHALSA, J., FRICKE, T., WEISSER, W.W., WEIGELT, A. und WACHENDORF, M. (2012): Effects of functional groups and species richness on biomass constituents relevant for combustion - Results from a diversity grassland experiment. *Grass and Forage Science*, DOI: 10.1111/j.1365-2494.2012.00884.x.
- ROSCHE, C., SCHUMACHER, J., BAADE, J., WILCKE, W., GLEIXNER, G., WEISSER, W.W., SCHMID, B. und SCHULZE, E.-D. (2004): The role of biodiversity for element cycling and trophic interactions: an experimental approach in a grassland community. *Basic and Applied Ecology* 5, 107–121.
- SCHMID, B., HECTOR, A., HUSTON, M. A., INCHAUSTI, P., NIJS, I., LEADLEY, P. W. und TILMAN, D. (2007): The design and analysis of biodiversity experiments. In M. Loreau, S. Naeem, and P. Inchausti (eds.). *Biodiversity and ecosystem functioning: Synthesis and perspectives*. Oxford Univ. Press, Oxford. 61–75.
- WHITE, T.A., BARKER, D.J. und MOORE, K.J. (2004) Vegetation diversity, growth, quality and decomposition in managed grasslands. *Agriculture Ecosystems & Environment* 101, 73–84.