

juni 2009

rapport 1296.N.08

Seleniumadvies voor grasland op basis van literatuur

ir. D.J. den Boer

dr. ir L. van Schöll

dr. ir. D.W. Bussink

nutriënten management instituut nmi bv
postbus 250
6700 ag wageningen
mariëndaal 8
6861 wn oosterbeek
tel. (0317) 46 77 00
fax (0317) 46 77 01
e-mail nmi@nmi-agro.nl
internet www.nmi-agro.nl

© 2009 Oosterbeek, Nutriënten Management Instituut NMI B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit de inhoud mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, op welke wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de directie van Nutriënten Management Instituut NMI.

Rapporten van NMI dienen in eerste instantie ter informatie van de opdrachtgever. Over uitgebrachte rapporten, of delen daarvan, mag door de opdrachtgever slechts met vermelding van de naam van NMI worden gepubliceerd. Ieder ander gebruik (daaronder begrepen reclame-uitingen en integrale publicatie van uitgebrachte rapporten) is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van NMI.

Disclaimer

Nutriënten Management Instituut NMI stelt zich niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen voortvloeiend uit het gebruik van door of namens NMI verstrekte onderzoeksresultaten en/of adviezen.

Verspreiding

Productschap Zuivel

2x

Commissie Bemesting Grasland en Voedergewassen

10x

Inhoud

	pagina
Samenvatting en conclusies	2
1 Inleiding	5
1.1 Aanleiding	5
1.1.1 Doelstelling	5
1.1.2 Opzet en uitvoering	5
1.1.3 Afbakening	5
2 Selenium in bodem en gewas	6
2.1 Seleniumbeschikbaarheid in grond	6
2.2 Selenium in het gewas	6
3 Bemesting met Se	8
3.1 Algemeen	8
3.2 Selenium vorm	8
3.3 Meststofsamenstelling	8
3.3.1 Se in organische mest	11
3.4 Se-opname door verschillende graslandsoorten	11
3.5 Selenium en milieu	12
4 Discussie en conclusies	13
5 Advies	15
6 Aanbevelingen	16
7 Referenties	17

Samenvatting en conclusies

Selenium (Se) is van belang voor een goede diergezondheid en dierprestatie. In het dier maakt Se deel uit van het enzym glutathionperoxidase (GSH-Px) dat voorkomt in het bloed, in organen en weefsels. Het is betrokken bij het onschadelijk maken van peroxyden, die onder andere ontstaan tijdens infecties. Een goede Se-voorziening leidt tot minder spierbeschadigingen en heeft een positieve invloed op de vruchtbaarheid. De seleniumbehoefte bij rundvee varieert, afhankelijk van leeftijd en productie tussen 0,10 en 0,18 mg Se kg⁻¹ opgenomen ds. Als streefwaarde in het rantsoen kan 0,15 mg (150µg) Se kg⁻¹ droge stof aangehouden worden. De gehalten aan selenium in gras(kuil) zijn zonder aanvullende bemesting veelal aanzienlijk lager dan de seleniumbehoefte van rundvee en ook van schapen en geiten.

Uit een eerdere studie kwam naar voren dat de voorziening van selenium van het (melk)vee het beste op peil gehouden kan worden door aanvullende bemesting (het bodem- en gewasspoor).

Seleniumbemesting op grasland wordt in de praktijk al op grote schaal toegepast. Daarom heeft de Commissie Bemesting Grasland en Voedergewassen het Nutriënten Management Instituut NMI verzocht een advies voor de bemesting met Se op grasland op te stellen op basis van literatuuronderzoek om dit op te nemen in de Adviesbasis bemesting grasland en voedergewassen.

Literatuur

De bodem bevat relatief weinig Se. Humusarme gronden bevatten minder Se dan gronden die rijk zijn aan organische stof. De beschikbaarheid van Se wordt sterk gestuurd door het adsorptiegedrag. De rangvolgorde van de hoeveelheid geadsorbeerd seleniet en selenaat op diverse gronden is als volgt: gronden rijk aan organischestof > kalkhoudende grond > normale grond > zoute grond > alkalische gronden. Een hogere pH leidt dus tot een betere Se-beschikbaarheid. Een hogere temperatuur bevordert eveneens de beschikbaarheid van Se. Uit een overzichtsartikel van 40 bemestingsproeven met selenaat kon echter geen duidelijk effect van de grondsoort op de Se-respons worden vastgesteld. Daarom is bij het opstellen van het advies uitgegaan van eenzelfde bemestingsadvies voor Se op de verschillende grondsoorten.

Selenaat houdende meststoffen hebben een duidelijk hogere Se-werking dan seleniet houdende meststoffen. Bij toedienen van Se in de vorm van selenaat is slechts één vijfde van de hoeveelheid Se nodig in vergelijking met seleniet om eenzelfde Se-verhoging in gras te krijgen. Selenaat houdende meststoffen hebben dus de voorkeur. Uit verschillende onderzoeken blijkt dat Se uit dierlijke mest slecht wordt opgenomen door de plant en van gering belang is voor de Se-voorziening van de planten. Onderzoekers in het buitenland gaan er veelal vanuit dat bemesting met 10 gram Se ha⁻¹ jaar⁻¹ als selenaat voldoende is voor een goede Se-voorziening.

De behoefte van rundvee varieert, afhankelijk van leeftijd en melkproductie, tussen 0,1 en 0,18 mg Se kg⁻¹ opgenomen ds. Bij bemesting met 10 gr Se ha⁻¹ als selenaat wordt het Se-gehalte in gras verhoogd tot circa 0,8 mg Se kg⁻¹ ds in de eerste snede na toedienen. Dit gehalte ligt ver onder de voor het vee als bovengrens gehanteerde waarde van 3 mg Se kg⁻¹ opgenomen ds maar is niet nodig voor de voorziening van het vee. De halfwaardetijd (tijd waarin het gehalte wordt gehalveerd) is 21 – 43 dagen. In de derde en volgende sneden is het gehalte dan weer lager dan het gewenste gehalte van 0,15 mg Se kg⁻¹ ds. In latere sneden is de voorziening dan onvoldoende. Jongvee en droogstaand melkvee krijgen op de bedrijven vaak graskuil uit latere sneden. Om al het vee gras en graskuil met een voldoende Se-gehalte aan te kunnen bieden is het advies om de bemesting over het seizoen te verdelen

in 2, 3 of meer giften.

In Nederland zijn verschillende meststoffen aanwezig waaraan Se is toegevoegd. Deze meststoffen fungeren dan als dragermeststoffen. Veelal zijn dit natrium- of stikstofmeststoffen. Er zijn meststoffen, waaraan slechts enkele microgrammen Se kg^{-1} meststof zijn toegevoegd. Hierdoor is het mogelijk om per snede niet meer dan 2 -3 gram Se ha^{-1} te bemesten.

Selenaat kan gemakkelijk uitspoelen en afspoelen. In de bovengrond met een hoge redoxpotential is Se aanwezig in de vorm van selenaat. De redoxpotential neemt in de regel af met de diepte. In diepere lagen wordt selenaat via seleniet gereduceerd tot selenide. Deze reductie leidt tot een zeer sterke adsorptie. Daardoor wordt in de regel weinig Se in grondwater aangetroffen. In Finland wordt al vanaf 1985 Se-bemesting toegepast. Op basis van monitoring van het water en sediment in Finse rivieren en meren concluderen onderzoekers dat er geen nadelige effecten op water-ecosystemen van het bemesten met Se zijn waargenomen.

Op basis van de literatuur is het volgende advies opgesteld:

Advies

- Om al het vee van gras(kuil) met een voldoende gehalte aan selenium te voorzien wordt geadviseerd het grasland jaarlijks te bemesten met maximaal 10 gram selenium ha^{-1} .
- Dit advies geldt voorshands voor alle grondsoorten.
- Voor een goede werking wordt geadviseerd selenium toe te dienen als selenaat. Gezien de geadviseerde lage hoeveelheid vindt bemesting plaats met behulp van dragermeststoffen. De meest gebruikte dragers zijn natrium- en stikstofmeststoffen.
- Voor een goede verdeling van het seleniumgehalte in het gras over de sneden is het advies om de seleniumbemesting in 2, 3 of meer giften over het seizoen te verdelen.

Dit advies is geaccordeerd in de vergadering van de Commissie Bemesting Grasland en Voedergewassen (CBGV) van 19 december 2008 en opgenomen in de Adviesbasis bemesting grasland en voedergewassen.

Mogelijke verfijning advies

Het bovenstaande bemestingsadvies voor Se is niet gebaseerd op het Se-gehalte in de grond en is voor alle grondsoorten gelijk. Onderzoek in het buitenland laat zien dat totaal Se in de grond een goede indicator is van de Se-beschikbaarheid. Door bodemparameters als pH, lutum en organische stof mee te nemen nam de verklaarde variantie tussen Se-totaal in de grond en Se in het gewas toe tot boven de 60% (Johnsson, 1992). Met moderne meettechnieken kunnen inmiddels zeer lage Se-concentraties ook in zwakke extractiemiddelen worden vastgesteld. Een advies gebaseerd op de Se-beschikbaarheid in de bodem zal naar verwachting leiden tot een nauwkeuriger advies en een betere voorspelbaarheid van de Se-gehalten in het gewas.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Selenium (Se) is van belang voor een goede diergezondheid en dierprestatie. In het dier maakt Se deel uit van het enzym glutathionperoxidase (GSH-Px) dat voorkomt in het bloed, in organen en weefsels. Het is betrokken bij het onschadelijk maken van peroxyden, die onder andere ontstaan tijdens infecties (Combs & Combs, 1986). Verder heeft Se nog andere effecten op de gezondheid. Ook is er een invloed op de vruchtbaarheid (Combs & Combs, 1986). De gehalten aan selenium in gras(kuil) zijn zonder aanvullende bemesting veelal lager dan de seleniumbehoefte van rundvee, schapen en geiten.

Uit een eerdere studie “Mineralenvoorziening rundvee via Voerspoor of Bodem- en Gewasspoor” (Bussink et al., 2007) kwam naar voren dat de voorziening van selenium van het (melk)vee het beste op peil gehouden kan worden via het bodem- en gewasspoor (i.e. bemesting). Seleniumbemesting op grasland wordt in de praktijk al op grote schaal toegepast. In de bemestingsadviesbasis voor grasland en voedergewassen is nog geen bemestingsadvies voor selenium opgenomen.

Meer kennis is nodig over de hoogte van de mestgift en de vorm van meststof voor de Nederlandse situatie.

1.1.1 Doelstelling

Opstellen van een advies voor seleniumbemesting op grasland op basis van literatuurgegevens. Dit advies, na accorderen door de Commissie Bemesting Grasland en Voedergewassen, opnemen in de ‘Adviesbasis bemesting grasland en voedergewassen’.

1.1.2 Opzet en uitvoering

Op basis van literatuuronderzoek wordt een bemestingsadvies voor selenium op grasland afgeleid voor de Nederlandse situatie.

1.1.3 Afbakening

Het opstellen van een advies op basis van resultaten van grondonderzoek valt buiten het bestek van deze studie. Het bemestingsadvies beperkt zich tot grasland.

2 Selenium in bodem en gewas

2.1 Seleniumbeschikbaarheid in grond

De bodem bevat relatief weinig Se. In Finland en Zweden worden concentraties van 0,065-1,7 mg kg⁻¹ grond gerapporteerd (Gissel-Nielsen et al., 1984; Johnsson, 1992; Gissel-Nielsen, 1993). In Groot-Brittannië variëren de hoeveelheden tussen lager dan 0,01 en 4,66 mg kg⁻¹ (Thornton et al., 1983) en in Duitsland van 0,016 tot 0,652 mg kg⁻¹ (Bahners, 1987). De verdeling hangt samen met de hoeveelheid ijzer en organische stof. Volgens Johnsson (1992) bevat organische stof 80 keer zoveel Se dan klei. Zandgronden met een laag gehalte aan organische stof bevatten dan ook weinig Se. Kleigronden kunnen over relatief veel uitwisselbaar Se beschikken.

De bijdrage van verwerking aan de hoeveelheid beschikbaar Se is gering (Combs & Combs, 1986). De belangrijkste oplosbare Se-verbindingen in gronden zijn selenaat (SeO₄) en seleniet (SeO₃). In de bovengrond komt Se het meest voor als selenaat, de belangrijkste ionvorm (Elrashidi et al., 1987) in de bodemoplossing bij hoge redoxpotentiaal. In de midden redoxrange is seleniet predominant en bij lage redox is selenide de belangrijkste ionvorm. De redoxpotentiaal neemt in de regel af met de diepte. De beschikbaarheid van Se wordt sterk gestuurd door het adsorptiegedrag van selenaat en seleniet. Seleniet wordt sterker geadsorbeerd dan selenaat. Mahendra et al. (1981) lieten zien dat de rangvolgorde van de hoeveelheid geadsorbeerd seleniet en selenaat op diverse gronden als volgt was: organischestofrijke grond > kalkhoudende grond > normale grond > zoute grond > alkalische gronden. De adsorptie van zowel seleniet als selenaat wordt positief beïnvloed door organische stof, klei, CaCO₃ en CEC en negatief door een hoog zoutgehalte, alkaliniteit en de pH. Een hogere pH leidt dus tot een betere Se-beschikbaarheid. Een hogere temperatuur bevordert eveneens de Se-beschikbaarheid.

Op zandgronden is vooral door een laag gehalte aan organischestof de laagste hoeveelheid Se in grond te verwachten. De beschikbaarheid wordt door veel factoren beïnvloed, waardoor de Se-beschikbaarheid op zandgrond niet duidelijk lager hoeft te zijn dan op klei (veel klei en/of kalk, maar hoge pH). De resultaten in Figuur 2-1 duiden hierop. De beschikbaarheid is verder in het algemeen laag omdat selenaat in de winter gemakkelijk uitspoelt naar diepere lagen. In de bovengrond met een hoge redoxpotentiaal is selenaat de belangrijkste ionvorm in de bodemoplossing (Elrashidi et al., 1987). De redoxpotentiaal neemt in de regel af met de diepte. In diepere lagen wordt selenaat via seleniet gereduceerd tot selenide. Deze reductie leidt tot een zeer sterke adsorptie. Daardoor wordt in de regel ook weinig Se in grondwater aangetroffen.

In Finland vond Ylärinta (1983, 1990, 1993) in potproeven met Italiaans raaigras een sterke reductie van de Se-opname uit seleniet en selenaat wanneer sulfaat en fosfaat was toegediend. Vooral sulfaat toediening zorgde voor een sterke daling van de selenaatopname.

2.2 Selenium in het gewas

Selenium (Se) is geen essentieel sporelement voor gewassen (Combs & Combs, 1986). Recente publicaties geven aan dat Se in gras een anti-oxidatieve werking heeft waardoor een blad minder snel afsterft (Cartes et al., 2005; Shanker 2005). Selenium wordt in het gewas vastgelegd in aminozuren als selomethionine en selocysteïne. Bij de gewasopname is Se competitief met S, maar kan het niet de rol van S in de plantfysiologische processen overnemen (Marschner 1996). Selenaat wordt net als sulfaat

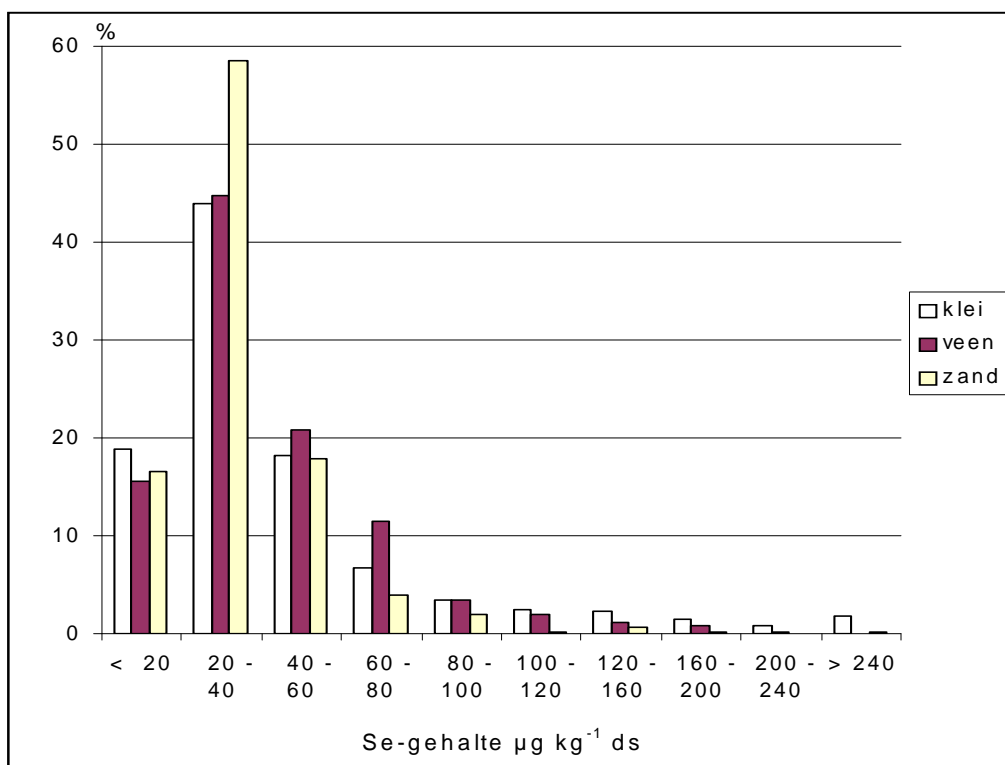
met een actief mechanisme door de wortel opgenomen. Voor seleniet is geen actief mechanisme voor opname bekend (Terry et al., 2000). De concentratie van S in de plant is veel hoger dan die van Se.

Uit Figuur 2-1 blijkt dat graskuilen in 1999 overwegend gehalten hadden van minder dan 60 μg ($0,06\text{ mg}$) Se kg^{-1} drogestof (ds). In dat jaar vond Se-bemesting nog nauwelijks plaats. De seleniumgehalten in deze graskuilen hebben dus vrijwel uitsluitend betrekking op gras afkomstig van niet met Se bemest grasland.

De verschillen tussen grondsoorten zijn beperkt. Het gemiddelde Se-gehalte van de graskuilen op klei-, veen- en zandgrond bedroeg respectievelijk 48, 41, 34 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ ds.

De Se-gehalten in snijmaïs zijn ongeveer de helft van die van niet bemest gras: 15 – 25 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ ds (bron Blgg, Oosterbeek).

De seleniumbehoefte bij rundvee varieert, afhankelijk van leeftijd en productie tussen 0,10 en 0,18 mg Se kg^{-1} opgenomen ds. Als streefwaarde in het rantsoen kan 0,15 mg ($150\mu\text{g}$) Se kg^{-1} droge stof aangehouden worden. Deze streefwaarde wordt in gras bij lange na niet gehaald.



Figuur 2-1. De frequentieverdeling van Se in graskuil in 1999 (bron: Blgg, Oosterbeek).

3 Bemesting met Se

3.1 Algemeen

In Nederland bestaat er tot hiertoe geen officieel bemestingsadvies voor Se, hoewel bemesting met Se wel wordt toegepast. In het buitenland is er meer ervaring met Se-bemesting. Deze wordt toegepast in landen als Nieuw Zeeland, Australië, Engeland en Finland. Bemesting met selenaat heeft daarbij de voorkeur.

3.2 Selenium vorm

Selenaathoudende meststoffen hebben een duidelijk hogere Se-werking dan seleniethoudende meststoffen. Volgens een uitgebreide review van Watkinson (1983) van veel Nieuw-Zeelandse experimenten is slechts één vijfde van de hoeveelheid Se nodig bij natriumselenaat toediening in vergelijking met natriumseleniet om eenzelfde Se-verhoging in gras te verkrijgen. Uit diverse proeven blijkt dat plantenwortels selenaat prefereren boven seleniet (Van Dorst & Petersen, 1984; Marschner, 1995). In Denemarken vonden Bisbjerg and Gissel-Nielsen (1969) dat de Se-opname door gewassen uit een selenaatmeststof gemiddeld 8 keer hoger was dan uit een selenietmeststof. Shand et al. (1992) vonden dat de opname van selenium bij een gift van 100 gram Se ha⁻¹ uit selenietmeststoffen gelijk was aan de Se-opname uit een gift van 10 g Se ha⁻¹ toegediend als selenaatmeststoffen.

Over een reeks van 40 proeven met selenaat vond Watkinson (1983) een min of meer een vergelijkbare Se-respons onafhankelijk van de grondsoort. Bemesting met 10 g Se ha⁻¹ leidde tot een Se-gehalte tussen 0,5 tot 2 mg kg⁻¹ ds in de eerste snede na bemesten om daarna exponentieel af te nemen. Dit patroon is typisch bij een eenmalige gift. De afname van het Se-gehalte gedurende het seizoen gaat snel, zoals ook blijkt uit de resultaten van Shand et al. (1992) (Tabel 3-1). Shand et al. voerden een veldproef uit waarin het effect van een eenmalige gift in de lente met 10 g natriumselenaat of 100-300 gram seleniet ha⁻¹ op de concentratie selenium in een gras/klavervegetatie werd vergeleken. De halfwaardetijd (de tijd waarin de concentratie selenium gehalveerd is ten opzichte van de piekwaarde) ligt tussen de 21-43 dagen (Watkinson, 1983; Shand et al., 1992).

Tabel 3-1. Het Se-gehalte in gras ($\mu\text{g kg}^{-1}$ ds) na bemesting met 10 g Se ha⁻¹ (als selenaat) in het jaar van toediening (Shand et al., 1992).

Snede	geen Se-bemesting, (gemiddelde van locaties 1, 2 en 3)	locatie 1	locatie 2	locatie 3
1	37	567	844	861
2	33	161	333	211
3	39	115	92	127
4	59		39	149

3.3 Meststofsamenstelling

De Se-respons hangt ook af van het begeleidende kation. Bahners (1987) testte het effect van Na, Ca, Mg en Zn als begeleidend kation in potproeven met gras. De toegediende hoeveelheid bedroeg 10 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ droge grond, overeenkomend met 40 g Se ha⁻¹. Een gift van 40 g Se ha⁻¹ was meer dan nodig is

om een niveau van $> 150 \text{ ug Se kg}^{-1} \text{ ds}$ in gras te realiseren. Bij gebruik van Na als begeleidend kation werden de hoogste Se-opnames gemeten.

Tabel 3-2. Effect van het kation in selenaatzout op het Se-gehalte ($\text{ug Se kg}^{-1} \text{ ds}$) van raaigras (Bahners, 1987).

Selenaat	Gift: ug Se kg^{-1} (dry soil)	snede 1	snede 2	snede 3	Se opname (% van toegediend)
MgSeO_4	10	448	356	260	12,1
Na_2SeO_4	10	1145	524	410	26,0
CaSeO_4	10	540	516	441	17,4
ZnSeO_4	10	550	363	341	14,3

Watkinson (1983) concludeert in zijn review verder dat de concentratie van selenium in het gras lineair gerelateerd aan de toedieningshoeveelheid (tot een gift van 200 g Se ha^{-1}). Deze lineaire relatie werd ook gevonden in een potproef door Verkleij en Mac Naeidhe (1992) en in veldexperiment in Australië met natriumseleniet (tot 800 g Se ha^{-1}) (Whelan, 1989). Proeven van Logonathan en Hedley (2006) en McLaren en Clucas (2006) laten zien dat de lineaire relatie tussen toedieningshoeveelheid en opname van selenium zoals afgeleid door Watkinson (1983) alleen geldt voor het wateroplosbare gedeelte (i.e. natriumselenaat). Bij meststoffen met een langzaam vrijkomende fractie (zoals bijvoorbeeld bij het granuleren van de natriumselenium met stoffen die de oplosbaarheid vertragen, of bij selenium in de vorm van bariumselenaat, dat beschouwd wordt als langzaam vrijkomend) is de opname kort na toediening lager en later in het seizoen hoger dan bij meststoffen die geheel wateroplosbaar zijn (Tabellen 3-3 en 3-4).

Logonathan en Hedley (2006) vergeleken de opname van Se uit Se-meststofgranules met verschillende samenstelling in een potproef met raaigras (Tabel 3-3). De toegediende hoeveelheid Se verschilde tussen de meststoffen: 14 g Se ha^{-1} voor natriumselenaat (100% wateroplosbaar), 24 g Se ha^{-1} voor een mengsel van natrium- en bariumselenaat (39% wateroplosbaar), en 28 en 21 g Se ha^{-1} voor de langzaam werkende natriumselenaat (respectievelijk 71% en 76% wateroplosbaar). De Se-concentraties in de nulbehandeling varieerden in de tijd van $0,01 \text{ mg Se}$ tot $0,04 \text{ mg Se}$. De Se-bemesting verhoogde de Se-concentraties na 39 dagen tot $1,70 - 2,80 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$. Met verloop van tijd nam de Se-concentratie in de planten exponentieel af. De werkingsduur van de meststoffen verschilde aanzienlijk. Bij de natriumselenaat (100% oplosbaar) was de Se concentratie in de bladeren 39 dagen na toediening $1,80 \text{ mg Se}$, gevolgd door een snelle afname waarbij de Se-concentratie na 8 maanden gelijk was aan de Se-concentratie in de nulbehandeling ($0,02 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$). Bij de langzaamwerkende natriumselenaatmeststoffen waren de waarden 39 dagen na toediening het hoogste ($2,3$ en $2,8 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$), gevolgd door een afname tot $0,05 - 0,15 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ na 12 maanden. De meststof met een mengsel van natriumselenaat en bariumselenaat gaf een minder sterke verhoging van de Se-concentratie 39 dagen na toediening ($1,7 \text{ mg Se}$) gevolgd door een geleidelijkere afname tot $0,22 \text{ mg Se}$ na 12 maanden.

Tabel 3-3. Effect van meststoffen op het Se-gehalte van raaigras (Logonathan en Hedley 2006).

meststof	Hoeveelheid g ha ⁻¹	% water- oplosbaar	Hoeveelheid wateroplosbaar g ha ⁻¹	mg					
				Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	
				<i>Dag na bemesting</i>					
				39	69	96	119	363	
nulbehandeling				0,04	0,01	0,01	0,02	0,02	
Natrium selenaat	14	100%	14	1,8	0,57	0,56	0,25	0,01	
Natrium/barium selenaat	24	39%	9,3	1,7	0,91	0,54	0,61	0,22	
Natriumselenaat langzaamwerkend	28	71	19,9	2,8	1,2	1,1	1	0,15	
Natriumselenaat langzaamwerkend	21	76	16	2,3	0,95	1	0,89	0,05	

Deze resultaten werden bevestigd door een veldproef met vergelijkbare meststoffen (McLaren en Clucas, 2006). Hierin werd de respons van raaigras met witte klaver op bemesting met natriumselenaat (100% wateroplosbaar, 6,7 g ha⁻¹), gemengd natrium- en bariumselenaat (39% wateroplosbaar, 6,7 g ha⁻¹) en twee langzaam vrijkomende natriumselenaat meststoffen (respectievelijk 60 en 76% wateroplosbaar, resp. 9,4 en 8,7 g Se ha⁻¹) gemeten (Tabel 3-4). Bemesting met natriumselenaat 100% wateroplosbaar gaf de hoogste respons in de eerste oogst (25 dagen na toediening) gevolgd door een snelle afname van de Se-concentraties in de tijd. Na 5 maanden was er geen verschil met de nulbehandeling. Bij de langzaam werkende meststoffen verliep de afname van de concentraties veel geleidelijker. De bemesting met natrium- en bariumselenaat mengsel gaf de laagste respons in de eerste snede (0,15 mg Se kg⁻¹ ds) gevolgd door een langzame afname in de tijd. Een jaar na bemesting was er nog steeds een aanzienlijk hogere Se-concentratie in de bladeren (0,07 mg Se kg⁻¹ ds) dan bij de nulbehandeling.

Tabel 3-4. Effect van meststoffen op het Se-gehalte van raaigras en witte klaver (McLaren en Clucas, 2006).

meststof	Gift g ha ⁻¹	% water- oplosbaar	Gift (water- oplosbaar) g ha ⁻¹	mg							
				Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds	Se kg ⁻¹ ds
				<i>Dag na bemesting</i>							
				26	52	73	102	132	155	330	364
nulbehandeling	0	0	0	0,03	0,04	0,03	0,03	0,07	0,01	0,02	0,02
Natriumselenaat	6,7	100	6,7	0,37	0,24	0,13	0,08	0,09	0,01	0,02	0,02
Natrium/barium- selenaat	6,7	39	2,6	0,15	0,2	0,1	0,1	0,13	0,05	0,12	0,07
Natriumselenaat langzaamwerkend	9,4	60	5,6	0,26	0,23	0,18	0,14	0,2	0,11	0,09	0,06
Natriumselenaat langzaamwerkend	8,7	76	6,6	0,32	0,25	0,22	0,19	0,17	0,05	0,04	0,03

Grace en West (2006) vonden een toename van Se-concentraties tot $0,98 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ twee weken na toediening van natriumselenaat prills (10 g Se ha^{-1}) aan grasland, gevolgd door een snelle afname tot concentraties gelijk aan die in de nulbehandeling $0,06$ na 4 maanden. De kritische waarde van $0,15 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ werd na 3 maanden bereikt. Bij toediening van de meststof met natrium-bariumselenaat (10 g Se ha^{-1}), was de Se concentratie na twee weken $0,44 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$, gevolgd door snelle afname tot $0,06 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ na 4 maanden. De kritische waarde werd na 2 maanden bereikt. Hier werd de aanvankelijke daling in Se-concentraties in het gewas gevolgd door een geleidelijke toename tot $0,26 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ na 11 maanden.

Uit de proeven van Loganathan en Hedley (2006) en McLaren en Clucas (2006) komt duidelijk naar voren de hoogte van de piek in Se-gehalte in de eerste snede gerelateerd is aan de hoeveelheid water oplosbaar natriumselenaat in de meststof. Bij meststoffen met 100% water oplosbaar natriumselenaat neemt de Se-concentratie in het gewas vervolgens snel af (vergelijkbaar met de resultaten van Shand et al., 1992). Bij meststoffen met langzaam werkend natriumselenaat is de afname veel geleidelijker. Bij meststoffen met zowel natrium- als bariumselenaat is de afname aanvankelijk gelijk aan die van 100% water oplosbaar selenaat, totdat de bariumselenaat op begint te lossen. Het vrijkomen van bariumselenaat geeft een meer geleidelijke afname (Loganathan en Hedley 2006) of zelfs een stijging van de Se-concentraties vanaf 6 maanden tot aan 11 maanden na toediening (McLaren en Clucas 2006; Grace en West 2006).

3.3.1 Se in organische mest

In de pens wordt Se door volwassen herkauwers voor een belangrijk deel omgezet in slecht oplosbaar Se dat wordt uitgescheiden met de faeces. Lammeren en kalveren die nog geen penswerking hebben, scheiden Se uit met urine. Mayland (1994) stelde vast dat in een 75 dagen durende proef met schapenmest slechts 0,3% van de Se werd opgenomen door de plant. Hij concludeerde dat Se in urine (aanwezig als trimethylselenomethionine) van gering belang is voor de Se-voorziening van planten.

3.4 Se-opname door verschillende graslandsoorten

Tussen plantensoorten bestaan grote verschillen in de opname van Se. Cruciferen kunnen relatief grote hoeveelheden Se opnemen in vergelijking met andere plantensoorten (Marschner, 1995). Voor grasland geldt verder dat de bereikte Se-gehalten afhankelijk zijn de compositie van de grassen en van het aandeel klavers en kruiden. Whelan (1989) vond in een veldproef dat klaver lagere Se-concentraties had dan gras. Dit wordt verder bevestigd door de resultaten van Hambuckers et al. (2008). Hambuckers et al. voerden een pot experiment uit waarbij zij de Se-opname van 5 cultuurgraslandsoorten en 19 veel voorkomende spontane graslandsoorten vergeleken bij wel en geen bemesting met Se ($9 \text{ g Se ha}^{-1} \text{ jr}^{-1}$). De bemesting werd gesplitst over 3 maandelijkse giften (27 april, 3 juni, 1 juli). Er was één oogst (4 augustus). De Se-concentratie in de bladeren bij de nulbehandeling was $0,05 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ds}$, wat onvoldoende is vanuit oogpunt van diervoeding. De Se-bemesting gaf een significante verhoging van de Se-gehalten in de bladeren, met een zeer grote spreiding tussen de plantsoorten. De Se concentraties in de grassen waren hoger of gelijk aan $0,26 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$, terwijl de Se-concentraties in de klavers onder de $0,2 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$ bleven. Ook bij de spontane graslandsoorten was er een zeer grote spreiding (waarden tussen $0,08$ en $0,493 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$). De gehalten bleven daarbij ver onder de waarde die als toxisch voor het vee wordt beschouwd ($3 - 4 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ ds}$). Er zijn geen metingen gedaan naar het verloop van de Se-concentraties gedurende het seizoen.

Tabel 3-5. De Se-gehalten in verschillende graslandsoorten aan het einde van het groeiseizoen (4 augustus) bij wel en geen bemesting met 9 g Se ha⁻¹ jr⁻¹ (Hambuckers et al., 2008).

Groep	Soort	Nulbehandeling	Se-behandeling
Klavers	<i>Trifolium pratensis</i> (rode klaver)	0,018	0,133
	<i>Trifolium repens</i> (witte klaver)	0,034	0,188
Grassen	<i>Festuca pratensis</i> (beemdlangbloem)	0,051	0,259
	<i>Lolium perenne</i> cv, <i>Elgon</i> (Engels raaigras)	0,063	0,435
	<i>Lolium perenne</i> cv, <i>Ritz</i> (Engels raaigras)	0,047	0,267

3.5 Selenium en milieu

Selenium wordt in kleine hoeveelheden als selenaat toegevoegd aan dragermeststoffen. Meestal zijn dit natrium- of stikstofmeststoffen. In de bovengrond is selenium bij een hoge redoxpotentiaal aanwezig in de vorm van selenaat. Selenaat kan gemakkelijk uitspoelen en afspoelen. De redoxpotentiaal neemt in de regel af met de diepte. In diepere lagen wordt selenaat via seleniet gereduceerd tot selenide. Deze reductie leidt tot een zeer sterke adsorptie. Daardoor wordt in de regel ook weinig Se in grondwater aangetroffen.

In Finland wordt al sinds 1985 selenium in de vorm van natriumselenaat toegevoegd aan meststoffen. Bezorgdheid over mogelijke bioaccumulatie van selenium in water-ecosystemen hebben geleid tot monitoring van het water en sediment in Finse rivieren en meren (Alfthan & Aro, 2005). Metingen zijn uitgevoerd in de jaren 1990 – 1992 en in de jaren 1997 – 1999. Deze metingen wezen uit dat Se-gehalten in water en sediment tussen de beide meetperioden niet waren verhoogd. Op basis van deze resultaten concludeerden zij dat er geen nadelige effecten op water-ecosystemen van het toevoegen van Se aan kunstmest zijn waargenomen.

4 Discussie en conclusies

Selenium wordt in het gewas vastgelegd in aminozuren als selomethionine en selocysteïne. Het is dus aanwezig als organisch gebonden selenium. Over het algemeen wordt aangenomen dat organisch gebonden mineralen door het dier beter kunnen worden benut dan mineralen in de anorganische vorm. Tot op heden zijn voor de beschikbaarheid van selenium voor herkauwers echter geen overtuigende verschillen aangetoond tussen organische en anorganische Se-bronnen (COMV 2005).

Humusarme gronden bevatten minder Se dan gronden die rijk zijn aan organische stof (Johnsson 1992). Mahendra et al. (1981) gaven aan dat Se in gronden die rijk zijn aan organische stof sterk geadsorbeerd is. Uit analyses van Blgg in 1999 (Figuur 2-1) blijkt dat de Se-gehalten in graskuilen, van overwegend niet met Se bemest land, op de grondsoorten klei, veen en zand goed vergelijkbaar zijn. Er lijkt dus geen verschil te bestaan in beschikbaarheid van Se tussen de grondsoorten. Watkinson (1983) gaf in een overzichtsartikel aan dat in 40 bemestingsproeven met selenaat geen duidelijk effect van de grondsoort op de Se-respons kon worden vastgesteld. Voorshands lijkt het verantwoord om uit te gaan van eenzelfde bemestingsadvies voor Se op de verschillende grondsoorten.

In de pens wordt Se door herkauwers voor een belangrijk deel omgezet in slecht oplosbaar Se dat overwegend wordt uitgescheiden met de faeces. Uit verschillende onderzoeken blijkt dat Se uit dierlijke mest slecht wordt opgenomen door de plant en van gering belang is voor de Se-voorziening van de planten.

Uit bemestingsproeven met seleniet en selenaat blijkt dat selenaat veel beter wordt opgenomen door de plant dan seleniet. Om het Se-gehalte in gras te verhogen heeft bemesting met selenaat de voorkeur.

Watkinson (1983) concludeerde in een uitgebreid review dat de concentratie van selenium in het gras bij bemesting met selenaat lineair gerelateerd is aan de toedieningshoeveelheid (tot 200 gr ha⁻¹). Onderzoekers in het buitenland gaan er veelal vanuit dat bemesting met 10 gram Se ha⁻¹ jaar⁻¹ voldoende is voor een goede Se-voorziening. De behoefte van rundvee varieert, afhankelijk van leeftijd en melkproductie tussen 0,1 en 0,18 mg Se kg⁻¹ opgenomen ds (COMV 2005). In onderzoek van Shand et al. (1992) wordt het Se-gehalte in gras bij bemesting met 10 gr Se ha⁻¹ (als selenaat) verhoogd tot 0,8 mg Se kg⁻¹ ds (Tabel 3-1) in de eerste snede na toedienen. De halfwaardetijd (tijd waarin het gehalte wordt gehalveerd) is 21 – 43 dagen. In de tweede snede is het gehalte nog 0,2 – 0,3 mg Se kg⁻¹ ds en in de derde snede zijn de gehalten lager dan het gewenste gehalte van 0,15 mg Se kg⁻¹ ds. De gehalten in de eerste snede liggen weliswaar ver onder de voor het vee als bovengrens gehanteerde waarde van 3 mg Se kg⁻¹ opgenomen ds (COMV, 2005) maar zijn niet nodig voor de voorziening van het vee. In latere sneden is de voorziening dan onvoldoende. Een verdeling van de bemesting over het seizoen in 2, 3 of meer giften zal leiden tot een betere verdeling van de gehalten over het seizoen. Bij een lineaire relatie tussen de bemesting met selenaat en het Se-gehalte in het gewas zal het Se-gehalte bij bemesting met 5 g Se ha⁻¹ in het voorjaar stijgen tot circa 0,4 mg Se kg⁻¹ ds. In de tweede snede neemt het gehalte dan af naar circa 0,15 mg Se kg⁻¹ ds en zal in latere snede lager zijn. Bij een volgende bemesting met 5 g Se ha⁻¹ herhaalt dit beeld zich dan, zodat ook in latere sneden goede gehalten in het gras kunnen worden gerealiseerd.

Jongvee en droogstaand melkvee krijgen op de bedrijven vaak graskuil uit latere sneden. Ze krijgen geen krachtvoer waarin ook selenium aanwezig is. De voorziening met Se is dan onvoldoende. De voorziening wordt dan in veel gevallen op peil gebracht met een mineralenmengsel. Dit mengsel bevat

ook mineralen en spoorelementen als zink en koper. De zinkvoorziening uit het basisrantsoen is vrijwel altijd voldoende. De voorziening met koper is wisselend tussen de bedrijven. Een goede verdeling van selenium over de sneden kan een tekort voorkomen zodat minder vaak aanvullende mineralenmengsels behoeven te worden verstrekt. Meer informatie over de voorziening met selenium staat in het rapport van Bussink et al. (2007): "Mineralenvoorziening rundvee via Voerspoor of Bodem- en Gewasspoor".

In het buitenland is onderzoek gedaan met meststoffen die uit een mengsel van natriumselenaat en bariumselenaat bestaan en meststoffen waarin de natriumselenaat niet 100% wateroplosbaar was maar respectievelijk 60-71% en 76 %. Selenium uit bariumselenaat komt voor een deel pas beschikbaar na het groeiseizoen. Het gebruik van bariumselenaat moet voor Nederlandse omstandigheden dus worden afgeraden. Bij gebruik van natriumselenaat met een lagere wateroplosbaarheid waren de Se-gehalten in de eerste snede na toediening lager dan bij 100% wateroplosbaar en waren de gehalten in latere sneden hoger. Het gebruik van een seleniummeststof die langzamer beschikbaar komt kan worden overwogen.

Door de dalende concentraties aan SO_2 in de atmosfeer en het verminderd gebruik van dierlijke mest en zwavelhoudende N- en P-meststoffen is de zwavelaanvoer naar grasland in Nederland gedaald. Om zwaveltekort te voorkomen is zwavel (S) opgenomen in het bemestingsadvies voor grasland op zand en löss. Op kleigronden zijn nog geen S-tekorten vastgesteld. Het zwavelbemestingsadvies is gebaseerd op het zwavel leverend vermogen (SLV) van de bodem (S-mineralisatie uit de bodemorganischestof) (Bussink en Postma 2002). Het advies is 0 kg S ha^{-1} bij voldoende hoog SLV tot 40 kg S ha^{-1} verdeeld over de eerste en de tweede snede bij een zeer laag SLV. Selenaat en sulfaat worden via hetzelfde mechanisme opgenomen en beconcurreren elkaar (Terry et al. 2000). Mogelijk leidt zwavelbemesting tot een lagere opname van selenium door het gewas bij een gelijktijdige bemesting in het voorjaar.

Op basis van literatuurgegevens lijkt een bemestingsadvies van maximaal 10 gram Se per ha per jaar verantwoord. In Nederland zijn verschillende meststoffen aanwezig waaraan Se is toegevoegd. Deze meststoffen fungeren dan als dragermeststoffen. Veelal zijn dit natrium- of stikstofmeststoffen. Er zijn meststoffen, waaraan slechts enkele microgrammen Se per kg meststof zijn toegevoegd. Hierdoor is het mogelijk om per snede niet meer dan 2 -3 gram Se ha^{-1} te bemesten. Een verdeling van de selenium over meerdere sneden behoeft dus technisch geen probleem te zijn.

5 Advies

- Om al het vee van gras(kuil) met een voldoende gehalte aan selenium te voorzien wordt geadviseerd het grasland jaarlijks te bemesten met maximaal 10 gram selenium ha⁻¹.
- Dit advies geldt voorshands voor alle grondsoorten.
- Voor een goede werking wordt geadviseerd selenium toe te dienen als selenaat. Gezien de geadviseerde lage hoeveelheid vindt bemesting plaats met behulp van dragermeststoffen. De meest gebruikte dragers zijn natrium- en stikstofmeststoffen.
- Voor een goede verdeling van het seleniumgehalte in het gras over de sneden is het advies om de seleniumbemesting in 2, 3 of meer giften over het seizoen te verdelen.

6 Aanbevelingen

Het bemestingsadvies voor Se is voor alle grondsoorten gelijk. Onderzoek in het buitenland laat zien dat totaal Se in de grond een goede indicator is van de Se-beschikbaarheid. Door bodemparameters als pH, lutum en organische stof mee te nemen nam de verklaarde variantie tussen Se-totaal in de grond en Se in het gewas toe tot boven de 60% (Johnsson, 1992). Met moderne meettechnieken kunnen inmiddels zeer lage Se-concentraties ook in zwakke extractiemiddelen worden vastgesteld. Een advies gebaseerd op de Se-beschikbaarheid in de bodem zal naar verwachting leiden tot een nauwkeuriger advies en een betere voorspelbaarheid van de Se-gehalten in het gewas.

Onderzoek naar het effect van gelijktijdige sulfaat- en selenaatbemesting voor de eerste snede op het Se-gehalte in het gewas strekt tot aanbeveling.

7 Referenties

- Alfthan G & Aro A (2005) Environmental effects of selenium fertilization – Is there a potential risk? In Proceedings (Merja Eurola, ed): Twenty Years of Selenium Fertilisation. September 8-9, 2005, Helsinki, Finland.
- Bahners N (1987) Selengehalte von Böden und deren Grasaufwuchs in der Bundesrepublik sowie Möglichkeiten der Selenanreicherung durch verschiedene Selen Düngungen. PhD Thesis, Friedrich Wilhelms Universität, Bonn, 151 pp.
- Balistrieri LS & Chao TT (1987) Selenium adsorption by goethite. *Soil Science Society of America Journal* 51, 1145-1151.
- Barrow NJ (1992) The effect of time on the competition between anions for sorption. *Journal of Soil Science* 43, 421-428.
- Binnerts WT, Das HA & Viets TC (1993) Liver selenium analysis in cows with a fast method of neutron activation reveals deficiency areas in The Netherlands. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 41, 47-57.
- Bisbjerg B & Gissel-Nielsen (1969) Uptake of applied selenium by agricultural plants. I. influence of soil type and plant species. *Plant and Soil* 31, 287-298.
- Bussink DW, Boer den DJ, Duinkerken van G & Son RLG (2007) Mineralen voorziening rundvee via voerspoor of bodem- en gewasspoor. NMI-rapport O1139 Wageningen 134 pp.
- Bussink DW & Postma R (2002) Achtergronden bij het zwavelbemestingsadvies voor grasland. NMI-rapport 203.99-1.
- Cartes P, Gianfreda L, y Mora, ML (2005). Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenite and selenate forms. *Plant and Soil*, 276: 359-367.
- Combs GF & Combs SF (1986) The role of selenium in nutrition. Academic Press, London, 532 pp.
- COMV (Commissie Onderzoek Minerale Voeding) (2005) Handleiding Mineralenvoorziening Rundvee, Schapen, Geiten. Centraal Veevoederbureau. ISBN-10:9072839439.
- Elrashidi MA, Adriano DC & Lindsay WL (1987) Solubility, speciation, and transformations of selenium in soils. In: Jacobs LW (ed.) Selenium in agriculture and the environment. Proceedings, Symposium ASA-SSSA, New Orleans, USA, 2 December 1986, SSSA Special Publication, Soil Science Society of America 23, 51-63. G20.
- Gissel-Nielsen G, Gupta UC, Lamand M & Westermarck T (1984) Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Advances in Agronomy* 37, 397-460.
- Gissel-Nielsen G (1993) General aspects of selenium fertilization. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, supp. 11, 135-140.
- Grace ND & West (2006) Effect of Se-amended fertilizers on the Se status of grazing dairy cattle. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production 66 182-186.
- Hambuckers A, Dotreppe O, Hornick J-L, Istasse L & Dufrasne I (2008) Soil-applied selenium effects on tissue selenium concentrations in cultivated and adventitious grassland and pasture plant species.
- Johnsson L (1992) Selenium in Swedish soils. Factors influencing soil content and plant uptake. PhD Thesis, Department of Soil Sciences, Uppsala.
- Loganathan P & Hedley MJ 2006 Spatial and teime-dependent release of selenium (Se) release from selected Se fertilizer granules. *Australia Journal of SAoil Research* 44, 155-163.
- McLaren RG & Clucas LM 2006 A field comparison of pasture selenium uptake from different forms of selenium fertilizer. *New Zealand journal of Agricultural research* 49, 227-232.
- Mahendra-Singh, Narendra Singh, Relan PS, Singh M & Singh N (1981) Adsorption and desorption of

- selenite and selenate selenium on different soils. *Soil Science* 132, 134-141.
- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. pp.889.
- Mayland HF (1994) Selenium in plant and animal nutrition. In: Frankenberger WT & Benson S (eds.) *Selenium in the Environment*. Marcel Delker Inc., Basel, 29-46.
- Neal RH, Sposito G, Holtzclaw KM & Traina SJ (1987) Selenite adsorption on alluvial soils: II. Solution composition effects. *Soil Science Society of America Journal* 51, 1165-1169.
- Shand C, Coutts G, Duff E & Atkinson D (1992) Soil selenium treatments to ameliorate selenium deficiency in herbage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 59, 27-35.
- Shanker AK (2006). Countering UV-B stress in plants: Does Selenium have a role? *Plant and Soil* 282: 21- 26.
- Terry N, Zayed AM, Souza de MP & Tarum AS 2000 Selenium in higher plants. *Annual Review of plant molecular biology* 51 401-432.
- Thornton I, Kinniburgh DG, Abrahams P, Gaye C, Rundle S, Pullen G & Smith CD (1983) Agriculture Group Symposium. Trace elements in soils, crops and forages. Summaries of papers presented at a joint meeting of the Agriculture Group of the Society of Chemical Industry and the British Society of Soil Science held at the Society of Chemical Industry, London on 19 October 1982. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34, 49-61.
- Van Dorst SH & Peterson PJ (1984) Selenium speciation in the soil solution and its relevance to plant uptake. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35, 6, 601-605.
- Verkleij FN & MacNaeidhe F (1992) Foliar application and uptake of selenium extracted from ryegrass. *Journal of Plant Nutrition* 15(8), 1227-1234.
- Watkinson JH (1983) Prevention of selenium deficiency in grazing animals by annual topdressing of pasture with sodium selenate. *New Zealand veterinary Journal* 31, 78-85.
- Whelan BR (1989) Uptake of selenite fertilizer by subterranean clover pasture in Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 4, 517-522.
- Ylä-ranta T (1983) Effect of liming and sulphate on the selenium content of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Annales Agriculturae Fenniae* 22, 152-163.
- Ylä-ranta T (1990) Effects of liming and the addition of sulphate and phosphate on the selenium content of Italian rye grass. *Annales Agriculturae Fenniae* 29, 141-149.
- Ylä-ranta T (1993) Selenium fertilization in Finland: Selenium soils interactions. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, No. suppl. 11, 141-149.