

Ministerstvo zemědělství ČR – Vědecký výbor pro výživu zvířat  
Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha-Uhřetěves

PŘÍRODNÍ LÁTKY A JEJICH BIOLOGICKÁ AKTIVITA.  
5. SEKUNDÁRNÍ METABOLITY ROSTLIN OVLIVŇUJÍCÍ METHANOGENEZI  
A MIKROBIÁLNÍ PROFIL U PŘEŽVÝKAVCŮ

Lubomír Opletal  
Bohumír Šimerda

Hradec Králové, Šumperk, říjen 2013

## OBSAH

1	ÚVOD	4
2	TVORBA A EMISE METHANU	6
2.1	Fyzikálně-chemické vlastnosti plynu, jeho vznik a výskyt	6
2.2	Emise methanu ze zemědělské činnosti	7
2.3	Tvorba methanu v trávicím traktu hospodářských zvířat	10
3	SEKUNDÁRNÍ METABOLITY OVLIVŇUJÍCÍ BACHOROVOU METHANOGENEZI	14
3.1	Saponiny	16
3.2	Třísloviny	19
3.3	Ostatní fenolické látky	21
3.4	Silice a terpeny	23
3.5	Ostatní sekundární metabolity	27
4	PRIMÁRNÍ METABOLITY	28
4.1	Alifatické karboxylové kyseliny	29
4.2	Mastné kyseliny	29
4.3	Polysacharidy	30
5	ADITIVNÍ METODY OVLIVNĚNÍ METHANOGENEZE U PŘEŽVÝKAVCŮ	31
6	ZHODNOCENÍ PRO ŽIVOČIŠNOU PRAXI	32
7	LITERATURA	35
	ABSTRAKT	45
	ABSTRACT	46

## ZKRATKY A VYSVĚTLIVKY

CLA	Konjugovaná linolová kyselina
EPER	European Pollutant Emission Register
E-PRTR	The European Pollutant Release and Transfer Register
formiát	anion kyseliny mravenčí
Fresh TMR	Fresh total mixed ration
FTMR	Fermented total mixed ratio
HMG-CoA reduktasa	Hydroxymethyl-glutaryl-koenzym A-reduktasa
LCFA	Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
MCFA	Mastné kyseliny se středním řetězcem
permafrost	trvale zmrzlá půdě v oblastech za severním polárním kruhem
SCFA	Mastné kyseliny s krátkým řetězcem
SSF	Solid state fermentation
TK	Krevní tlak
UNFCCC	United Nations Framework Convention on Climate Change
VFA	Těkavé mastné kyseliny

## 1 ÚVOD

Některé malé molekuly anorganických a organických látek, které se běžně vyskytují v atmosféře Země, přispívají výrazným způsobem ke skleníkovému efektu: zemská atmosféra způsobuje ohřívání planety tím, že snadno propouští sluneční (viditelné a ultrafialové) záření, ale infračervené záření o vyšších vlnových délkách, které je zpětně vyzařováno z povrchu planety silně zadržuje a brání tak jeho okamžitému úniku do vesmírného prostoru. Tato zadrž je funkcí obsahu právě některých sloučenin, jako je voda, oxid uhličitý, methan, částečně a zcela fluorované uhlovodíky, tvrdé a měkké freony, oxid dusný, ozon a některé fluorované organické plyny (které však mají v celém kontextu relativně nízký vliv). Vlnové délky světla absorbovaného plyny lze určit podle vlastností molekul těchto plynů. Je prakticky pravidlem, že heteronukleární dvou-, tří- a víceatomové molekuly plynů silně absorbují v infračervené oblasti, zatímco homonukleární dvouatomové molekuly nikoli. To je důvodem, proč voda a oxid uhličitý jsou skleníkovými plyny, zatímco hlavní složky atmosféry (dusík a kyslík) nikoli.

Skleníkový efekt se vyskytuje na Zemi zcela přirozeně, prakticky od začátku její existence. Bez přítomnosti těchto plynů v příslušné oblasti atmosféry by se pohybovala průměrná teplota při povrchu Země asi na  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Nátr 2006). Tento efekt je tedy nezbytným předpokladem existence života na Zemi v jeho proměnlivých formách (Fabian 2002). Hlavní podíl na něm mají tyto složky: voda (~ 60 %), oxid uhličitý (~ 26 %), methan, oxid dusný a ozon (~ 8 %). Uvedený efekt má však výraznou antropogenní složku navozenou intenzivní lidskou činností, jako je spalování fosilních paliv, kácení lesů, globální změny krajiny s nežádoucím koloběhem vody, zvýšená průmyslová a zemědělská produkce. V důsledku těchto faktorů dochází ke globálnímu oteplování. Proces má svoje cykly od vzniku Země, v současnosti je však pojem používán pro tzv. poslední oteplování, které začalo na začátku 20. století v souvislosti s intenzivní průmyslovou výrobou. Končí tak „malá doba ledová“ (Bond Even Zero). Nárůst teplot ve 20. století se sice časově shoduje s růstem sluneční aktivity v tomto období, ale není rozhodujícím faktorem pro oteplování (Solanski a spol. 2003, Solanski a spol. 2004). Rozhodujícím faktorem je právě zvyšování obsahu skleníkových plynů z lidské činnosti. Ačkoliv je však vliv této činnosti na klima jednoznačně prokázán, existují do současné doby spory o míru tohoto vlivu a jejich vyřešení nelze v nejbližší době očekávat. Je však jisté, že musí existovat efektivní snahy o snížení emisí skleníkových plynů

do ovzduší a zabránění tak průběžnému (i když zdánlivě malému) zvyšování atmosférické teploty.

Nejvyšší absorpční kapacitu pro infračervené záření má voda, následuje oxid uhličitý a teprve ve skupině látek ve třetím pořadí je to methan. Ačkoliv se na základě uvedených číselných údajů zdá, že tato látka nehraje oproti vodě a oxidu uhličitému významnou roli, je to omyl: produkce methanu se bude v následujících desetiletích patrně zvyšovat. Dovolujeme si tvrdit, že hlavním producentem nejsou bahenní plyny a ložiska plynu v zemské kůře a podkoří, ale je jím zemědělská výroba se svojí extenzí i intenzitou.

Z těchto důvodů existují velmi intenzivní snahy ovlivnit methanogenezi u přežvýkavců. Je to úkol nelehký, protože methanogeneze je procesem do velké míry složitým, váže se k různým mikroorganismům, které jsou ve své genetické i metabolické aktivitě plastické a těžko uchopitelné. Navíc je produkce methanu výrazně ovlivněna složením krmiva a řadou synantropních faktorů.

Úkolem předložené studie nebylo podat vyčerpávající přehled o vlivu sekundárních metabolitů rostlin na methanogenezi a vytvořit jednoznačné doporučení, jak ji snížit. O takové doporučení se dosud nikdo nesnažil, protože je to proces zahrnující celou řadu faktorů, mnoho stupňů volnosti a tím i vysokou entropii, která se při hodnocení a doporučení projevuje. Cílem této studie bylo proto vybrat reprezentativní publikace o přírodních látkách, potřebným způsobem je zpracovat a rozdělit tak, aby z nich vyplynul smysl případného studia nebo použití těchto rostlinných metabolitů a abychom se mohli pokusit o predikci postupů případného zásahu do produkce methanu. Oproti původnímu plánu jsme do této studie zahrnuli i některé primární metabolity (pouze zkráceně), neboť jsou často součástí experimentů s metabolity sekundárními (extrakty z rostlin). Ve světě existuje jen velmi málo pracovních skupin, které se problematikou methanogeneze zabývají ve vší hloubce a šíři. Nutno říci, že jedině takový koordinovaný a systematický přístup k řešení problému, v němž se spojí pracovní týmy, může přinést prakticky využitelné výsledky. To je jedním z důvodů (zdá se, že hlavním), proč není vědecké poznání v oblasti snížení methanogeneze u přežvýkavců na takové úrovni, jak by to bylo na začátku tohoto století žádoucí.

## 2 TVORBA A EMISE METHANU

### 2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti plynu, jeho vznik a výskyt

Methan je za normálního tlaku a teploty bezbarvý plyn, bez zápachu (t. v.  $-161\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), s molekulou pravidelného tvaru, energeticky stabilní, je poměrně lehce zkapalnitelný, vysoce hořlavý (5–15 % obj. ve směsi se vzduchem tvoří výbušnou směs); je lehčí než vzduch ( $1,29\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ), a proto se může poměrně snadno dostávat do atmosféry. Není rozpustný ve vodě, a proto jeho odstraňování z atmosféry srážkovou činností nepřichází v úvahu, methan v atmosféře setrvává. Výrazně pohlcuje infračervené záření, v této účinnosti překonává oxid uhličitý.

Vyskytuje se v surové ropě i zemním plynu, v nichž tvoří klatráty s vodou ve formě bělavého prášku, který ucpává potrubí. Jeho hydráty se vyskytují v permafrostu i na mořském dnu, především v mělkých mořích. Tyto velké oblasti jsou potenciálními zdroji uvolnění plynu do atmosféry v poměrně širokých oblastech kolem všech kontinentů i některých rozsáhlejších jezer. Je produkován třemi způsoby:

- 1) Tepelným rozkladem organické hmoty,
- 2) Syntézou z anorganických sloučenin bez zásahu mikroorganismů,
- 3) Metabolickou aktivitou mikroorganismů.

V současnosti je platným přístupem ke tvorbě za přispění živých organismů činnost anaerobních bakterií v zatopených rýžových polích a v zažívacím traktu přežvýkavců (hovězí dobytek).

Methan může oteplovat atmosféru  $20\times$  až  $30\times$  více než oxid uhličitý. Existují však názory, že methan nemá podle Planckova vyzařovacího zákona vůbec vliv na globální oteplování, pokud se použijí vlnové délky tepelného záření, které plyn v atmosféře pohlcuje a které se váží k hodnotám  $3,3\text{ }\mu\text{m}$  a  $7,9\text{ }\mu\text{m}$ . Jedná se však o čistou spekulativní matematickou úvahu, která nebere v úvahu všechny stupně volnosti v entropickém přírodním systému.

V současnosti existuje názor, že hlavním zdrojem emisí jsou především biologické pochody, probíhající bez přístupu kyslíku (anaerobní vyhnívání), kdy se methan stává konečným produktem redukce organických sloučenin. Odhaduje se, že přibližně 80 % současných emisí je biologického původu. Mezi antropogenní zdroje methanu patří:

- 1) Chov domácích zvířat, především skotu ( $65\text{--}100\text{ mil. tun/rok}$ ),
- 2) Emise z těžby a zpracování fosilních paliv ( $40\text{--}100\text{ mil t/rok}$ ),
- 3) Spalování biomasy ( $20\text{--}100\text{ mil. t/rok}$ ),

- 4) Skládky odpadu (tvorba bioplynu – 20–70 mil. t/rok),
- 5) Pěstování rýže (170 mil. t/rok),
- 6) Čistírny odpadních vod s anaerobní stabilizací kalu (vyhňování, vznik bioplynu),
- 7) Výroba chemikálií běžné potřeby (acetylen, vodík, kyanidy, methanol),
- 8) Koksárenství.

Antropogenní emise tvoří ~ 60 % celosvětových emisí methanu do atmosféry. Naopak emise z úniku plynu v souvislosti s jeho manipulací jsou ve vyspělých zemích minimální a na celkových emisích se podílejí zcela zanedbatelně. Emise se podílí na poškozování ozonové vrstvy. Z důvodu těchto obecných rizik byla látka zařazena do Registru o sledování na základě nařízení o E-PRTR, rozhodnutí o EPER, UNFCCC-Kyóto, Vyhl. 356/2002 Sb. a Vyhl. 232/2004 Sb.

## 2.2 Emise methanu ze zemědělské činnosti

Nejběžnějším zdrojem methanu z celého spektra zemědělské výroby jsou v živočišné výrobě chov skotu, prasat, ovcí, koz, drůbeže, skladování a manipulace s chlévskou mrvou, kejdou a drůbežím trusem. V rostlinné výrobě je významným zdrojem proces kompostování.

Zdrojem methanu ze zemědělské produkce jsou:

- 1) vlastní zdravé živočišné organismy produkující plyn procesem:
  - trávení v digestivním ústrojí,
  - extrakorporálních rozkladů exkrementů,
  - dýchání (exhalace),
- 2) nemocné živočišné organismy, u kterých dochází k:
  - patologickému trávení,
  - extrakorporálnímu rozkladu chorobou pozměněných výkalů,
  - patologické plicní ventilaci (exhalace),
- 3) technologie, přímo navazující na chov produkující methan:
  - evaporací z krmivových komponent (konzervovaných),
  - odparem a odvětráváním asanačních médií,
  - dalšími – vedlejšími – technologiemi živočišné výroby,
- 4) navazující zdroje methanu v živočišné výrobě:
  - polní a statková hnojiště,

- močůvkové a kejdové jímky,
- senážní a silážní jámy a věže,
- kafilerní boxy a trezory.

Pro informaci uvádíme emise methanu ve dvou obdobích v ČR (tab. 1), (Jelínek a spol. 2003).

Tab. 1 Celkové množství methanu emitované ve dvou obdobích s ohledem na celkové chovy zvířat

Kategorie zvířat (podle EU)	Počet kusů		Koeff. respektující celk. roční množství CH <sub>4</sub> (kt)	
	1995	2001	1995	2001
Skot celkem	2 029 000	1 520 136	85,577	63,570
Prasata celkem	2 009 000	3 440 925	111,391	43,232
Drůbež celkem	26 688 000	29 973 846	2,122	2,382
Koně celkem	18 000	20 891	0,915	1,062
<b>Celkem</b>	-	-	<b>202,005</b>	<b>110,887</b>

Je patrné, že produkce methanu vlivem zemědělské činnosti není zanedbatelná, je poměrně významná, především však je složitá – je entropickým stavem, který zahrnuje mnoho proměnných stupňů volnosti, a proto řešení není jednoznačné. Výzkum a vývoj technologií, jejichž úkolem je snížit produkci tohoto plynu by měl být zaměřen především na následující oblasti (Jelínek a spol. 2003):

1. redukci tvorby plynů v trávicím traktu a výkalech ovlivněním výskytu metabolických poruch (alkolózy, acidózy, ketózy) – předpokládá se, že tímto způsobem je možné snížit emise až o 15 %,
2. snížení tvorby plynů v trávicím traktu a výkalech likvidací saprofytické mikrobiální flóry v trávicím traktu léčebnou aplikací xenobiotik, tj. antibiotik, sulfonamidů, antiparazitik – předpoklad snížení emisí je až o 10 %,
3. redukcí tvorby plynů v trávicím traktu a výkalech změnami krmných dávek – předpoklad snížení emisí až o 10 %,
4. redukcí tvorby plynů v trávicím traktu a výkalech v důsledku mikroklimatických změn (ochlazení) – předpoklad snížení emisí je zde až o 5 %,
5. omezení emise methanu u nuceně větraných stájí (prasata, drůbež) využitím biofiltru – předpoklad snížení emisí je o 20 – 40 %,



6. omezení emisí methanu ze skládek chlévského hnoje a kejdy ošetřením enzymovými přípravky – předpoklad snížení emisí je o 35 – 50 %.

7. podrobení zvířecích exkrementů procesu rychlokompostování.

Možnosti snížení emisí bod 5., 6. je však nutné experimentálně ověřit a provést ekonomické vyhodnocení.

Procentuální hodnoty, týkající se předpokládaného snížení produkce methanu ve výše uvedeném přehledu pokládáme za nadnesené a snad nepravděpodobné. Kroky v některých bodech mohou být totiž problémové (legislativa zakazující plošné použití antiinvazních látek), komerčně náročné (použití biofiltrů a enzymových přípravků), případně od nich nelze očekávat takovou úroveň změn (chlazení).

Methan je také běžně uvolňován z výkalů dojnic na pastvě (Dolejš a spol. 2007), i když je methanogeneze vázána na anerobní prostředí.

Jednou z cest se ukazuje použití aditivních látek do krmiv, které by měly ovlivnit mikroflóru v trávicím traktu zvířat, aniž by však ovlivnily plnoprodukční zdraví zvířat (tak jako antibiotika a sulfonamidy) a konečný produkt (ve svém důsledku potravní řetězec). Takové látky mohou být nalezeny ve vegetabilních surovinách farmaceutického průmyslu.

Přítomnost skotu ovlivňuje půdní společenství methanotrofních bakterií, jejich nadměrný výskyt i spektrum. V půdách zatížených skotem jsou výrazně silné kolonie těchto mikroorganismů a zvýšený výskyt je patrný i v zimním období (Nitkulincová 2011).

### 2.3 Tvorba methanu v trávicím traktu hospodářských zvířat

Tvorba methanu je charakteristická pro přežvýkavce, protože tento druh organismů je schopen v anaerobním prostředí zpracovávat celulózu. Systém žaludků obsahuje komplexní mikroflóru, navzájem se ovlivňující a zasahující do produkce tohoto plynu (změna pH, některé složky krmiva, onemocnění aj.). Nicméně je nutné konstatovat, že methan se vyskytuje také v exkrementech nepřežvýkavců (prasat) a ptáků (slepice). Komplexnost tohoto metabolismu byla dokonale popsána, zde je potřebné uvést pouze některé prvky tohoto procesu, ke kterému se váží sdělení v následujících kapitolách.

Methanogenezi zajišťují některé anaerobní organismy z domény *Archaea*, které jsou schopné methanogeneze (tzv. methanogeni). Při anaerobním rozkladu celulózy vzniká velké množství metabolických produktů, z nichž některé jsou donory vodíku a elektronů (kyselina mravenčí, octová, methanol aj.); tyto donory následně zajišťují redukci oxidu uhličitého na methan, tzn., že methanogeneze je *de facto* formou anaerobní respirace oxidu uhličitého. Kromě mokřadů a mořských sedimentů jsou proto ideálním prostředím trávicí ústrojí přežvýkavců a termitů, v němž žijí prvoci schopní metabolizovat celulózu (Klaban 2001). K methanogenům patří např. archaea těchto druhů: *Methanobacterium* sp., *Methanococcus* sp. *Methanosarcina* sp. a *Methanospirillum* sp.

Methanogeni patří mezi Euryarchaeota; jedná se o poměrně širokou systematickou skupinu organismů. Jejich konečný metabolický produkt – methan – představuje poslední krok akumulace dusíku v mnoha anaerobních prostředích, v nichž chybí anorganické akceptory elektronů ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ). Methanogeneze u nich probíhá ve velmi rozmanitých prostředích, nicméně limitující je pH (patrně nižší než 5). Dělí se podle metabolických drah, které mohou být hydrogenotrofní, acetoklastická a methylotrófní. V trávicím ústrojí zvířat (savci, bezobratlí) dochází k nekompletnímu rozkladu organické hmoty, pasáž je zde příliš rychlá než aby bylo střevo kolonizováno pomalu rostoucími druhy acetoklastických methanogenů. Proto se zde uplatňují především rychle rostoucí methanogeni využívající vodík a formiát, přičemž acetát a organické látky jsou akumulovány a mohou být využity zvířaty jako zdroj živin (hydrogenoformní mikroorganismy).

Je nutné vzít v úvahu, že methanogeni jsou organismy ubikvitární. Je to skupina s různými zástupci žijícími velmi dobře v anaerobních prostředích (hnilý hmot, vlhké dřevo, kanalizace, černé bahno, mořské bahenní sedimenty), kde využívají oxid uhličitý a vodík a v nutričně náročných anaerobních podmínkách s redoxním potenciálem  $\sim 300$  mV a pH 6–8;

jako substráty využívají také formiát, acetát, methanol a methylamin. Jsou schopné metabolizovat jen úzkou skupinu substrátů a jsou dosud poměrně málo charakterizovány s ohledem na metabolické, biochemické a strukturální vlastnosti (Sirohi a spol. 2010). Mikroorganismy v bachoru lze obecně rozdělit na hydrogenogenní a hydrogenotrofní. Sleduje se vztah mezi methanogeny a non-methanogeny a zaměření na mikrobiální populace vztahující se ke snižování produkce methanu, resp. na vztah hydrogenogenních mikroorganismů (protozoa a fibrinolytické bakterie) a hydrogenotrofních vyjma methanogenů (Zhou a spol. 2011). Tomuto faktu je nutné ve výzkumu věnovat náležitou pozornost, protože může být zdrojem nových poznání, které zjednoduší přístupy k ovlivnění methanogeneze v bachoru.

Trávicí trakt ruminantů obsahuje běžně prvoky. Tito nálevníci bývají často osídleni vnitrobuněčnými symbionty. Jde o celou skupinu prokaryotických organismů, kteří se mohou vyskytovat jako parazité, především však jako mutualisté a jako komenzálové. Dosud existuje málo informací o vzájemných metabolických interakcích anaerobního nálevníka s jeho symbionty (Görtz 2001) a to je pro ovlivnění methanogeneze komplikujícím faktorem. Významnou skupinou endosymbiontů anaerobních nálevníků jsou methanogenní archibakterie (Nováková 2009). Tyto mikroorganismy žijí v různých podmínkách (často extrémních), v endosymbiotickém stavu; tato symbióza byla poprvé popsána u bachorových nálevníků (Stumm a spol. 1982). Methanogenní archebakterie jsou známy svojí hostitelskou specifitou, což je dáno jejich vertikálním přenosem (Hoek a spol. 2000). Závislost mezi výdejem methanu a počtem nálevníků nebyla sice prokázána, ale lze očekávat výrazné rozdíly ve tvorbě plynu v přímé závislosti na počtu methanogenních endosymbiontů u jednotlivých druhů nálevníků. Ví se však, že methanogenní symbionti u bachorových nálevníků produkují až 100x více methanu než ti, kteří žijí volně ve vodě (Van Hoek a spol. 2006).

Další důvod významu methanogeneze je v metabolickém působení mikroflóry v bachoru. Methanogenní bakterie v bachoru přispívají k eliminaci redukčních ekvivalentů. Ty byly utvořeny při fermentaci, která probíhá činností anaerobních organismů (Šurín a spol. 2006). Mikrobiální ekosystém a methanogeneze u ruminantů byly poměrně široce rozebrány v nedávné době (Morgavi a spol. 2010).

Anaerobní prostředí v gastrointestinálním traktu býložravců podporuje rozvoj specifických mikrobiálních společenstev, která představují široké spektrum mikroorganismů od bakterií,

anaerobních hub až po anaerobní prvky a je charakterizováno dostupností bohatého zdroje rostlinných sacharidových polymerů. U býložravých savců (například ovce, hovězí dobytek nebo kozy) nalezneme tyto mikroorganismy především v bachoru, u živočichů, kteří bachor nemají, se tyto organismy vyskytují ve střevě. Abychom pochopili jejich roli v bachorovém ekosystému, musíme znát více informací o mikrobiální komunitě a o jejich celkovém efektu na fermentaci (Nováková 2009).

U přežvýkavců je nutné mít na paměti, že bachor je vysoce specializovanou částí žaludku, v níž probíhá trávení rostlinného materiálu jako potravního zdroje (za působení bakterií celulózového štěpení, např. *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus* sp., *Clostridium* sp.). V tomto systému metabolizují bachoroví nálevníci sacharidy, produkují aminokyseliny a zpracovávají nestravitelné strukturní polysacharidy až do formy nestabilních lipidů, aby pak mohly být snadno absorbovány hostitelem a vytvářet tak jeho hlavní energetické zásoby (Nováková 2009). Bachoroví nálevníci, kteří žijí v symbióze se skupinou přežvýkavců, náleží systematicky do podtřídy Trichostomatia a můžeme je rozdělit do dvou hlavních skupin (Ricard a spol. 2006): řád Entodiniomorpha (*Entodinium simplex*, *Entodinium caudatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Metadinium medium*, *Diploplastron affine*, *Polyplastron multivesiculatum* a *Epidinium ecaudatum*) a řád Vestibuliferida, dříve pojmenovaný Holotricha (*Isotricha prostoma*, *Isotricha intestinalis* a *Dasytricha ruminantium*).

Mikrobiální systém bachoru je mimořádně složitý a úkol tohoto systému, tj. převést efektivně komplexní sacharidy na jednoduché zkvasitelné cukry, je zčásti možný díky účinnému odstraňování vodíku přes redukci oxidu uhličitého na methan, což je zajišťováno methanogeny. Tvorba methanu může být zablokována jen na krátkou dobu, protože ekosystém bachoru se snaží obnovit rovnovážný stav a vrátit produkci methanu na původní úroveň za použití různých adaptivních mechanismů (McAllister a spol. 2008). Samotný reduktivní proces oxidu uhličitého v bachoru však není často stechiometrický, tyto rozdíly nebyly do detailu vysvětleny a zde se nachází pole poznání a ovlivnění methanogeneze. Je nesporné, že složení krmiva má zásadní význam na ruminální fermentaci jak se o tom zmiňuje řada přehledových článků (v poslední době např. Sauvant a spol. 2011), ne vždy se však k tomuto faktu ve velkochovech přihlíží.

U nepřežvýkavců savců (prasata), tedy monogastrických živočichů, existuje podstatně odlišný charakter fermentačních procesů, které probíhají jak ve fázi žaludečního zpracovávání přijaté potravy, tak specificky i v úsecích tenkého a následně i tlustého střeva.

Velmi specifické znaky, vlastnosti a následně i produkty metabolického procesu vykazují kategorie ptáků (hrabavá a vodní drůbež). V žaludku dochází k rozkladu škrobu (sacharidů) a bílkovin a to nejen vlivem příslušných enzymů, ale také specifické a často i druhově významně odlišené mikroflóry trávicího traktu. Důsledkem této biochemické aktivity je tvorba celé skupiny plynů, kvalitativně i kvantitativně odlišných od přežvýkavců. Odlišnost tohoto procesu vychází z faktu spotřeby a skladby krmiva: přežvýkavci, jako kategoričtí býložravci, přijímají velká množství vegetabilní hmoty, v níž štěpí anaerobním procesem celulózu v systému složité struktury tří předžaludků a vlastního žaludku. Teprve následně a v relativně menší míře dochází k trávení v tenkém střevu a tračníku.

V případě ptáků (drůbeže) jsou biochemické procesy trávení podstatně odlišné: nedisponují mikrobiální výbavou pro štěpení celulózy, tzn., že pro jejich trávicí systém nejsou obvyklé methanogeny specifické pro přežvýkavce, u kterých je trávicí trakt mimořádně dlouhý, kdežto u těchto zvířat je naopak mimořádně krátký. Proto je za normálních podmínek podíl na emisi methanu u tohoto typu zvířat významně nízký.

Ovlivnění fermentace a mikrobiálního profilu v trávicím traktu hospodářských zvířat látkami přírodní povahy je věnována poměrně velká pozornost. Zcela zásadní pozornost je věnována tomuto procesu u přežvýkavců, protože produkce methanu je právě u tohoto typu zvířat nejvyšší. V tomto přehledu je použita reprezentativní literatura za posledních 15 let výzkumu a to jak výsledky *in vitro*, tak přímo na zvířatech.

### 3 SEKUNDÁRNÍ METABOLITY OVLIVŇUJÍCÍ BACHOROVOU METHANOGENEZI

Sekundární metabolity rostlin představují v současné době nejširší skupinu látek, které mají určitý potenciál využití v inhibici tvorby methanu v bachoru. Není pochyb o tom, že tyto látky jsou účinné, velkým problémem však zůstává nestandardnost a nedefinovanost produktů (extraktů), které jsou k tomuto účely používány (resp. experimentálně zkoumány). V následujícím přehledu jsou uvedeny hlavní skupiny látek, u kterých byl prokázán biologický účinek.

Těmto látkám je věnována řada přehledových článků. Z výsledků experimentů je zřejmé, že rostlinné extrakty mají výrazný potenciál pro využití v ovlivnění metabolismu bachorových mikroorganismů, je však třeba využít metod molekulární biologie, aby byly do detailu objasněny mechanismy účinků a tím mohly být tyto směsi látek efektivně využívány (Hart a spol. 2008). Je rovněž věnována pozornost sekundárním metabolitům, které se mohou vyskytnout v krmivu a diskutován vztah mezi strukturou a účinkem jednotlivých typů látek s cílem predikce vhodných metabolitů pro další studium vlivu na širokou skupinu bachorových mikroorganismů (Patra, Saxena 2009a).

Autorský kolektiv, zabývající se studiem přírodních látek v živočišné výrobě navrhl v souvislosti s celosvětovým zájmem o fytochemické složkách sofistikovaný a logický program týkající se nutričního hodnocení a vlivu látek přírodního původu na bachorovou fermentaci, tvorbu methanu, produkční zdraví zvířat, bezpečnost potravin a dopad na životní prostředí. Tento program zahrnuje pět fází: (i) botanickou charakteristiku rostlin a jejich složení, (ii) analytické studie o účinné látce (látkách) přírodního původu, (iii) *in vitro* testy pro sledování účinku látek na bachorovou fermentaci a methanogenezi (vlastní screening), (iv) studie *in vivo* (příjem krmiva, parametry bachorové fermentace, tvorba methanu, (v) studie o dlouhodobém příjmu přírodních látek (zdraví a výkonnost zvířat, kvalita a bezpečnost potravin živočišného původu, adaptace mikroorganismů, vliv na životní prostředí aj.). Autoři tuto představu diskutují (Flachowsky a spol. 2012). Je nutné konstatovat, že návrh představuje nejucelenější koncepci systematického přístupu k fytochemickým zdrojům z hlediska vlivu na methanogenezi.

Do skupiny inhibitorů methanogeneze je zařazuje poměrně omezená skupina látek, především fenolických (flavonoidy a další). Saponiny např. inhibují methanogenezi ve vysokých dávkách. Třísloviny mohou tento proces inhibovat jak přímo, tak prostřednictvím inhibice růstu prvoků. Silice, organosírné sloučeniny a flavonoidy mohou mít přímý účinek

vůči methanogenezi. Ačkoliv mohou mít tyto sekundární metabolity rostlin negativní vliv na využitelnost živin v krmné dávce, může být methanogeneze potlačena, aniž by byla narušena bachorová fermentace. To je důvod, proč by tyto látky mohly být potenciálně použity ke zmírnění emise methanu u přežvýkavců (Patra, Kamra, Agarwal 2010).

Studii, které se zabývají extrakty nebo látkami z jedné rostliny, je velmi omezené množství. Lze jmenovat např. *Impatiens balsamina*: obsahové látky nati snižují bachorovou produkci methanu. V dávce 2,5 % suché nati v sušině krmné dávky dochází údajně ke kompletní inhibici tvorby methanu, zvyšuje se tvorba oxidu uhličitého a konverze amoniaku na hrubý mikrobiální protein v rámci mikrobiální fermentace v bachoru. Nejúčinnější je suchá rozemletá rostlina (Zhang a spol. 2012). Je škoda, že nebyly objasněny účinné látky, které takto působí, protože uvedená rostlina je snadno pěstovatelná a její zavedení do širších stájových pokusů by určitě nepřinášelo problémy.

Existují poměrně široce koncipované studie, které využívají celé skupiny rostlinných taxonů jako *Andrographis paniculata*, *Azadirachta indica*, *Bambusa balcooa*, *Eclipta alba*, *Alternanthera sessilis*, *Calotrips gigantea*. Pokusy ukázaly, že listy *Andrographis paniculata* a *Azadirachta indica* a kůra *Calotrips gigantea* snižují bachorovou methanogenezi, aniž by nepříznivě ovlivňovaly ostatní parametry fermentace v bachoru (Santra a spol. 2012). Nemalá pozornost je věnována také kombinacím rostlin s obsahem různých metabolitů, např. tříslovin a triterpenů v jedné rostlině. Při studiu ovlivňování bachorové mikroflóry u bizonů se ukázalo, že účinné jsou z hlediska celkové tvorby plynu, produkce methanu a aktivity enzymů v rámci ruminální fermentace (*in vitro* testy) především (resp. převážně) tříslovinné drogy, jako *Acacia concina*, *Terminalia chebula*, *Terminalia belerica* a *Embllica officinalis*, které byly testovány ve formě vodných a alkoholových (ethanol, methanol) extraktů. Jako účinný se ukázal především methanolový extrakt z *T. chebula* (Patra, Kamra 2006a). Výrazný účinek na snížení tvorby methanu vykazují také sekundární metabolity některých tropických rostlin s obsahem nejen tříslovin, saponinů, silic, ale i lignanů, triterpenů, alkaloidů a dalších, např. *Sapindus mukorossi*, *Terminalia chebula*, *Psidium guajava* a další (Kamra a spol. 2006).

Na téma těchto látek jsou prováděny rovněž pokusy o meta-analýzu a získání zásadních údajů z publikované literatury. Studie, které se věnují sekundárním metabolitům rostlin (saponiny, třísloviny, silice, organosírné sloučeniny, celkem 36 publikovaných studií) jako inhibitorům tvorby methanu, byly podrobeny metaanalýze, při které se ukázalo, že inhibiční

účinek je závislý na typu sloučeniny, ale především na tom, zda byla provedena studie *in vitro* nebo *in vivo*. Každá z těchto látek musí být posuzována jednotlivě (a to i v rámci jednoho strukturního typu), protože může vykazat antinutriční efekt (Patra 2010). Zůstává však otázkou k posouzení praktická výpovědní hodnota této meta-analýzy, protože ve většině studií nebyl použit stejný typ extraktů nebo směsí látek s se meta-analýzy vypořádávají obtížně.

### 3.1 Saponiny

Saponiny jsou jednou ze skupin látek, kterým je věnována pozornost v souvislosti s ovlivněním ruminálního metabolismu (mikrobiálních populací) a snížení produkce methanu. Jejich účinek je závislý na typu těchto sloučenin (Patra 2009). Rostliny a extrakty obsahující saponiny tlumí bakteriolytickou aktivitu ruminálních ciliátních protozoí a zvyšují tak celkový tok proteinu z bacheru. Efekt některých saponinů je přechodný, protože jsou hydrolyzovány bakteriemi na sapogenin, který je vůči prvokům mnohem méně toxický. Tento typ sloučenin má také selektivní antibakteriální účinky, které mohou být např. prospěšné při řízeném trávení škrobu (Wallace 2004). V této souvislosti o nich byla napsána řada přehledových článků (Wina a spol. 2005, Feng a spol. 2010). Vliv saponinů přítomných v extraktech z některých rostlin na charakteristiky ruminální fermentace a produkci methanu byl objasňován ve studii v níž se ukázalo, že látky zasahují především do růstu kolonií prvoků v rumen bez jakýchkoliv negativních efektů na fermentaci sledovanou *in vitro* (Ok a spol. 2010). Jiný efekt ovšem může nastat po aplikaci těchto látek do organismu s krmivem.

Jen omezeně jsou saponiny používány jako samostatná složka. Patrně nejčastěji používaným zdrojem těchto látek v zemědělské praxi z hlediska methanogeneze je kůra mýdlokoru (*Quillaja saponaria*), případně různé typy extraktů z ní připravené. Tento efekt byl pozorován u kombinované směsi obsahující saponiny mýdlokoru (*Quillaja saponaria*) (0,6 a 1,2 g/L), propinoát (4 a 8 mM), a nitrát (5 a 10 mM). Existuje názor, že tato kombinace může být použita k praktickému ovlivnění tvorby methanu (Patra a spol. 2013).

Významný je sarsaponin z *Yucca shidigera*, který byl podroben biologickému testu na mladých volch a sledovány jeho účinky na ruminální fermentaci, mikrobiální profil, produkci methanu a obsah metabolitů v krvi. Výsledky navázaly na dřívější studie *in vitro* (Lila a spol. 2003) a ukázaly, že látka může částečně inhibovat methanogenezi v bacheru *in vivo* a zlepšit fermentaci (Lila a spol. 2005). U extraktů z *Yucca shidigera* s obsahem saponinů bylo při



experimentech *in vitro* nalezeno inhibiční působení vzhledem k tvorbě methanu v rumen v široké škále krmiv s různými složkami a různými poměry těchto složek (Xu et al 2010). Byla také sledována směs obou zmíněných typů saponinů: triterpenových (kůra mýdlokoru) a steroidních (podzemní část juky). Saponiny obsažené v této směsi snižují produkci methanu u dojnic (*in vitro*). Nižší mléčná užitkovost po aplikaci saponinů a zároveň snížení využitelnosti krmné dávky (při vyšších dávkách saponinů) však činí tyto látky málo atraktivními z hlediska možného využití pro redukcii tvorby methanu *in vivo* (Holtshausen a spol. 2009). Jiní autoři však podobné výsledky nenašli. Zajímavé biologické efekty byly zjištěny při sledování těchto obou typů saponinů s  $\beta$ -1,4-galaktooligosacharidy z hlediska ovlivnění bachorové fermentace, produkce methanu a utilizaci dusíku u ovcí. Ukázalo se, že podání saponinů z mýdlokoru a juky snižuje v rumen obsah amoniaku, a celkovou koncentraci těkavých mastných kyselin, dochází ke snížení emise methanu, aniž by bylo ovlivněno trávení vlákniny. Aplikace saponinů z juky ať už s přísadou nebo bez přísady zmíněných galaktooligosacharidů snižuje počet prvků v rumen. Ať už směsi obou saponinů, nebo jen saponinů juky a galaktooligosacharidů mohou být potenciálními a výhodnými přísadami pro regulaci bachorové fermentace (Pen a spol. 2007).

Separátně byly sledovány saponiny také z několika dalších rostlin, hojně pěstovaných. Saponiny získané ze semen čajovníku (*Camellia sinensis*) inhibují protozoa v rumen a pravděpodobně snižují aktivitu methanogenů spojených s těmito prvky. Mohou být využitelné pro nepřímou inhibici tvorby methanu u přežvýkavců, aniž by narušily funkce bachoru (Guo a spol. 2008). Tomuto problému byl v nedávně době věnován poměrně rozsáhlý přehledový článek (Wang a spol. 2012). Byl také sledován efekt sapindosidu (resp. vyčištěného extraktu) ze *Sapindus saponaria* na ruminální fermentaci a produkci methanu *in vitro* v dávce 1,5 % v sušině krmiva. Došlo ke snížení tvorby amoniaku i počtu ruminálních prvků. Ukazuje se, že tento extrakt by mohl být použit také pro snížení tvorby methanu, (Wang a spol. 2012). Podle našeho názoru je však obsah saponinů příliš vysoký. *Sapindus saponaria* patří mezi snadno získatelné plody a proto existuje potenciální zájem na jeho využití. Při porovnání inhibice methanogeneze navozené separátně i směsí saponinů z plodů *Sapindus saponaria*, *Enterolobium cyclocarpum* a *Pithecellobium saman* (ruminální likvor *in vitro*) bylo zjištěno, že saponiny ze *Sapindus saponaria* tlumí velmi efektivně ruminální methanogenezi, nicméně není to účinek spojený pouze se snížením počtu prvků v rumen (Hess a spol. 2003). Praktický význam může mít použití steroidních saponinů ze semen

pískavice (*Trigonella foenum-graecum*). Už v dřívějších studiích bylo prokázáno, že přísada vodného nebo methanolového extraktu ze semen pískavice neovlivňuje tvorbu celkového plynu a methanu. Jak vodný, tak methanolový extrakt snižuje využitelnost živin z krmné dávky (Rejil 2006). V pokuse *in vitro* bylo prokázáno, že 2 % přísady semen do krmné dávky snižuje produkci methanu u přežvýkavců a zvyšuje využitelnost krmné dávky (Rejil a spol. 2007). Při sledování vlivu nativních a pražených semen pískavice (*Trigonella foenum-graecum*) na emisi methanu u skotu se ukázalo, že přísada 2 % nativních nebo pražených semen snižuje emise methanu bez vlivu na chutnost a stravitelnost živin z krmné dávky na základě poklesu protozoální populace bachoru. Zároveň se ukázalo, že pražená semena nemají žádné výhody oproti semenům nativním (Rejil a spol. 2008).

Vliv na fermentaci a tvorbu methanu (u ovce) byl sledován *in vitro* po přidavku extraktu z lékořice čínského původu (nejspíše *Glycyrrhiza uralensis*) tvořeného směsí triterpenových saponinů a široké skupiny flavonoidních látek. Výsledky ukázaly, že přísada 1 % extraktu do krmiva je optimální v případě tohoto pokusu pro snížení hladin methanu (Guo a spol. 2012). Podobně byl sledován u ovcí extrakt z čínské léčivé drogy *Fructus ligustri lucidi* z hlediska ovlivnění tvorby methanu a ruminální fermentace rovněž u ovcí (dávka 1–4 g/litr bachorové tekutiny). Výsledky ukázaly, že extrakt lineárně snížil produkci methanu a amoniaku a poměr acetát-propionát. V žádné z dávek však extrakt neměl vliv na hodnotu pH bachoru a molární koncentraci acetátu a propionátu. Došlo také ke zvýšení bachorové fermentace a snížení počtu *F. succinogenes*, resp. jeho potlačení (Qiao a spol. 2012). Byl také popsán účinek tříslovin z *Vaccinium vitis-idaea* na ruminální mikrobiální fermentaci *in vivo*. Dávka rostlinného materiálu byla taková, aby odpovídala 2 g tříslovin/kg sušiny krmné dávky. Třísloviny vykazují antimikrobiální aktivitu, snižují počet prvoků, čímž se sníží produkce methanu a koncentrace amoniaku (Cieslak a spol. 2012), je však otázkou, jak obsahové látky zasáhnou do dalšího metabolismu v trávicím ústrojí zvířete.

Ostatní experimenty zahrnují většinou směsi saponinů s různými sekundárními metabolity, které pocházejí z různých rostlin. Pozitivně je hodnoceno použití směsi oplodí mangostany (*Garcinia mangostana*, třísloviny) a plodů sapindu (*Sapindus saponaria*, saponiny); po její aplikaci dochází ke snížení produkce methanu, ovšem v závislosti na obsahu vlákniny v krmivu; vyšší dávky této přísady nejsou žádoucí (Poungchompu 2009).

Listy sesbanie (*Sesbania sesban*) a bodláku (*Carduus microcephalus*) se semeny pískavice (*Trigonella foenum-graecum*) a jejich extrakty ovlivňují distribuci živin z objemných a

koncentrovaných krmiv a tvorbu methanu; suplementace listy bodláku se ukazuje vhodná jak pro objemná, tak pro koncentrovaná krmiva, zatímco semena pískavice a listy sesbanie jsou výrazně účinnější pro koncentrovaná krmiva z hlediska snížení produkce methanu, jak ukázaly pokusy *in vitro*. Je však potřebné tyto výsledky zhodnotit pokusy *in vivo* (Goel a spol. 2008a). V případě uvedených tří rostlin je pro snížení produkce methanu a ovlivnění ruminální fermentace velmi důležité znát profil obsahových látek, protože na něm významně záleží výsledky studií (Goel, Makkar 2008b). Prozatím nebyl tento profil publikován.

### 3.2 Třísloviny

Třísloviny jsou hojně sledovanou skupinou látek z pohledu ovlivnění methanogeneze u přežvýkavců. Jsou jim věnovány přehledové články (např. Xu a spol. 2011). Z hlediska základní struktury se jedná o dvě hlavní skupiny: o třísloviny kondenzované (deriváty flavonolu) a hydrolyzovatelné (estery glukosy s kyselinou gallovou). Při studiích *in vitro* bylo zjištěno, že pro použití je vhodnější aplikovat směs tříslovin kondenzovaných i hydrolyzovatelných, která je z hlediska methanogeneze účinnější než samotné třísloviny hydrolyzovatelné (Bhatta a spol. 2009). Třísloviny přidané do krmiva mohou mít pozitivní vliv na energetickou bilanci a využití bílkovin v bacheru. Z tohoto pohledu byl zjišťován vliv dvou strukturních typů tříslovin v dávkách 20–200 g/kg sušiny krmiva, konkrétně tříslovin kondenzovaných (akácie – *Acacia mearnsi* a kebračo – *Aspidosperma quebracho-blanco*) a hydrolyzovatelných (kaštan – *Castanea sativa* a valonea tannins: *Quercus* sp.) na procesy mikrobiální fermentace v bacheru *in vitro*. Třísloviny z akácie, kaštanu anebo valonea-třísloviny v dávce 50 g/kg krmiva snižují produkci methanu a předžaludkovou degradaci proteinů s minimálním nepříznivým vlivem na fermentační aktivitu v bacheru (Hassanat a spol. 2013). Poněkud kontroverzní údaje byly publikovány tureckými autory, kteří sledovali účinek třísloviny z dubové kůry (1–4 % přísady ke krmivu) s ohledem na fermentaci v bacheru (metoda Rusitec). Přitom zjistili, že pH ruminální tekutiny, celková produkce plynů a také produkce methanu nebyla těmito tříslovinami příliš ovlivněna, stejně tak jako rozklad dusíkatých látek v předžaludku, rozklad hrubé vlákniny, neutrální a kyselá detergentní vlákniny, ačkoliv digestibilita dusíkatých látek v bacheru měla spíše klesající tendenci (Aktas a spol. 2011). To dosvědčuje jednoznačně fakt, že výchozí surovina musí být jednoznačně definována, aby bylo přesně známo, s jakými látkami se pracuje.

Využitelné třísloviny jsou hledány v rostlinách různých geografických oblastí. Výsledky bývají občas kontroverzní a nepochopitelné: při sledování vlivu sekundárních metabolitů *in vitro* na produkci methanu, amoniaku a populaci ruminálních protozoí, byla studiu podrobena řada rostlin, pocházejících z Indie, především s obsahem tříslovin. Jako optimální se ukázaly rostliny *Rauwolfia serpentina*, *Indigofera tinctoria* a *Withania somnifera*, které výrazně potlačují methanogenezi s minimálním nepříznivým účinkem na využitelnost živin. Autoři jsou toho názoru, že třísloviny obsažené v těchto rostlinách mohou být zdrojem přírodních látek, nově využitelných v živočišné výrobě (Bhatta, Saravanan 2013). To je velmi kuriózní, protože *Rauwolfia serpentina* je producentem významných indolových alkaloidů ovlivňujících zásadním způsobem psychiku a TK savců, *Indigofera tinctoria* obsahuje v listech indigo (a je otázkou, co může toto barvivo způsobit ve tkáních hospodářských zvířat), u druhu *Withania somnifera* nejsou popisovány žádné významné třísloviny, ale steroidy. Výsledky a dedukce autorů jsou však pochopitelné – jednalo se o studii *in vitro*. Zajímavý údaj uvádí Bhatta a spol.: sledovali obsah a účinek tříslovin v 21 druzích léčivých a aromatických rostlin. Na základě experimentálních výsledků dospěli k závěru, že methanogeneze *in vitro* není esenciálně spojena s metabolismem populace prvoků. Jako nejaktivnější taxony se v těchto pokusech ukázaly třísloviny obsažené v listech *Clerodendrum inerme*, *Gymnema sylvestre* a *Sapindus laurifolia* (Bhatta, Baruah 2013).

V současné době významné komercializace jsou studovány rostliny, které jsou v této době využívány sice k jiným účelům (ovoce, zelenina, technické rostliny), ale bylo by velmi prospěšné, kdyby akční rádius využití mohl být rozšířen (podobně ve farmacii jsou stará, ověřená léčiva podrobována studiu na nové, terapeuticky využitelná léčiva z důvodu šetření). Stejný postup je volen i u běžně využívaných rostlin: do jaké míry je možné ovlivnit methanogenezi a fermentaci v ruminálním likvoru u bizonů bylo sledováno u extraktů (vodný, ethanolový, methanolový) z listů běžně využívaných rostlin *Mangifera indica* (mango), *Eugenia jambolana* (jamun), *Aegle marmelos* (bel), *Ziziphus jujuba* (ber), *Azadirachta indica* (neem) a *Ficus religiosa* (peepal). Bylo zjištěno, že methanolový extrakt z listů mango inhibuje potenciální ruminální methanogenezi, aniž by výrazně ovlivňoval charakteristiky ruminální fermentace (Kumar a spol. 2011). Při sledování vlivů produktů ze „sheanut“ – bassie parkovy (*Butyrospermum parkii*, nyní *Vitellaria paradoxa*) byly použity pokrutiny (sheanut cake, SNC), extrudáty (expeller, SNE) a extrakty (SNSE) ve studii *in vitro*, v níž byl sledován vliv na fermentační profil a populaci prvoků. Ukázalo se, že tyto produkty

s obsahem fenolických sloučenin (zde především tříslovin) je vhodné zařadit do krmiva přežvýkavců nejen jako zdroj energie a bílkovin, ale také k ochraně proteinů vzniklých ruminální degradací a ke snížení tvorby methanu (Bhatta a spol., 2012a).

Velká pozornost je věnována obsahu tříslovin v tropických rostlinách, protože tropické zemědělství může tento potenciál velmi vhodně využít. V rámci této „nové“ strategie vhodné pro výživu přežvýkavců v tropických oblastech je zohledňován fakt, že některé pícniny v těchto regionech jsou chudé živinami a je proto vhodné maximálně využít jejich digestibilní složky a zároveň se snažit o snížení produkce plynů, hlavně methanu. Podle výsledku experimentů vyhovují tomuto požadavku vegetabilní části *Acacia angustissima* a *Sesbania sesban* (Bekele a spol. 2009). Ze stejného hlediska byl sledován vliv kondenzovaných tříslovin z listů leuceny (*Leucaena leucocephala*), známého a vysoce kvalitního krmiva v Asii na produkci methanu, ruminální fermentaci a populaci methanogenů a prvoků *in vitro*. Ačkoliv mají tyto třísloviny výrazný vliv na redukci tvorby methanu, mají zároveň výrazný negativní efekt na digestibilitu krmné dávky (Tan a spol. 2011). Podobné účinky na depresi tvorby methanu našel Huang (Huang a spol. 2011). Je však otazné s jakým experimentálním materiálem (kvalitou extraktů) pracoval. Při širším screeningu tropických rostlin s obsahem tříslovin tlumících bachorovou methanogenezi bylo zjištěno, že velmi vhodnými taxony pro bližší studium jsou *Acacia mangium*, *Biophytum petersianum*, *Jatropha curcas* a *Psidium guajava* (Hariadi a spol. 2010). Ve studii, zabývající se listy *Autocarpus integrifolia*, *Jatropha curcas* a *Sesbania grandiflora* bylo zjištěno, že obsahové látky (třísloviny) významně potlačují methanogenezi. Mohou být proto potenciálním zdrojem pro praktické využití (Bhatta a spol. 2012b). Tito autoři se dlouhodobě zabývají tříslovinami jako modifikátory bachorové činnosti a to zejména u tropických rostlin, nezdá se tedy, že by to byla studie pouze vědeckého významu. To se týká ovšem jen geografických oblastí, kde jsou tyto vegetabilní zdroje běžné.

### 3.3 Ostatní fenolické látky

Vliv na methanogenezi mají i některé fenolické netříslovinné látky. Významnou roli (do jisté míry málo pochopitelnou) zde sehrávají produkty z ledvinovníku západního (*Anacardium occidentale*). Inhibice tvorby methanu a zvýšení tvorby propionátu u přežvýkavců (v pokusech *in vitro*) byla nalezena právě u produktů z ledvinovníku (kešu) – cashew nutshell liquid (CNSL) – *de facto* extraktu, získaného zpracováním odpadních produktů za studena nebo za tepla.

V jednom z experimentů, při použití čistých kultur mikroorganismů bylo zjištěno, že tento produkt brání růstu bakterií produkujících vodík, formiát, ale neovlivňuje růst bakterií závislých na tvorbě propionátu. CNSL je bohatý na fenolové látky (anakardové kyseliny, kardol, kardanol) ovlivňující mikrobiální profil v bachoru a tím i snížení produkce methanu a zvýšení produkce propionátu (Watanabe a spol. 2010). Účinek CNSL z hlediska snížení obsahu methanu v rumen je významně spojen se snížením obsahu acetátu a významně spojen se zvýšením obsahu propionátu a vodíku. Tyto výsledky ukazují, že extrakt je schopen snížit produkci methanu a acetátu, aby došlo ke zvýšení produkce vodíku a tvorbě propionátu *in vivo* (Mitsumori a spol. 2013). Jako zajímavý se ukazuje pokus při použití oleje z ořechů kešu na produkci methanu a ruminální fermentaci (bohužel jen u malého počtu experimentálních zvířat): tato surovina působí jako silný inhibitor methanogeneze a agens zvyšující hladiny propionátu zásahem do mikroflóry bachoru, aniž by ovšem byla ovlivněna využitelnost krmné dávky (Shinkai et al 2012). Využitelnost produktů z kešu se nám však zdá velmi problematická: kardol, jeho deriváty a anakardové kyseliny jsou výrazně iritujícími látkami a bylo by asi velmi obtížné dosáhnout jejich schválení k použití, ačkoliv je uvedená surovina levná a snadno dostupná, protože produkce kešu ořechů je vysoká. Připravit krmivo s těmito látkami, uskladňovat jej a především s ním manipulovat je podle našeho názoru nereálné bez významných komplikací u obsluhujícího personálu.

Z flavonoidních látek byl sledován glykosid rutin. Při sledování jeho vlivu *in vitro* na fermentaci v ruminálním likvoru bizonů nebyl zjištěn žádný významný účinek na poměr acetát : propionát. Po jeho aplikaci mírně klesá produkce methanu na jednotku degradovaného substrátu. Zdá se, že by mohl být potenciálně využitelnou látkou ovlivňující ruminální fermentaci, ale jeho dávka musí být ještě optimalizována, aby bylo dosaženo maximálního snížení methanogeneze a zároveň nebyly negativně ovlivněny další parametry digesce (Shete 2009). Rutin je sice látkou komerčně dostupnou a nepříliš drahou (zhruba před 10 lety začal opouštět svoji pozici mezi léčivy a přesunuje se spíše oblasti nutraceutik), v Evropě by však bylo výhodné použít jeho laciný zdroj – nať pohanky obecné (*Fagopyrum esculentum*). Rutin, květy pohanky a celá nadzemní část snížily produkci methanu o více než 10 %. Objevily se zde však rozdíly v účinku na bachorovou fermentaci mezi rutinem a samotnou pohankou. Teprve studie *in vivo* mohou tyto rozdíly přesně pojmenovat (Leiber a spol. 2012). Aby věc nebyla jednoduchá, i zde se vyskytuje komplikace spočívající v tom, že těsně před květem vzrůstá v nadzemní části (především v poupatech) obsah naftodianthronu

fagopyrinu, který je chemicky stabilní, omezeně se rozkládá při sušení i silážování, a vyvolává fototoxicitu.

Produkce methanu, resp. populace methanogenů v ruminální tekutině u bahenních bizonů byla výrazně ovlivněna kombinací kokosového oleje (*Cocos nucifera*) a prášku z oplodí mangostany (*Garcinia mangostana*) s obsahem flavonoidů a anthocyanů. Jako optimální se ukazuje kombinace maximálně 6 % kokosového oleje a 4 % prášku z oplodí mangostany (vztaženo na sušinu krmiva) (Pilajun a spol. 2011). Nesporně zde hraje významnou roli kokosový olej, jak bude uvedeno v příslušné další kapitole.

Xanthohumol z chmele (*Humulus lupulus*) byl podroben předběžnému studiu z hlediska vlivu na mikrobiální populaci, produkci methanu a základní parametry bachorové fermentace. V tomto *in vitro* pokusu se ukázalo, že tzv. základní substrát s obsahem 0,1 mg xanthohumolu/400 mg triturační směsi (luční seno + ječná mouka 60 : 40) snížil po 24 hodinách produkci methanu o cca 12 %. Praktická využitelnost tohoto poznatku však bude moci být posouzena až po dlouhodobých studiích *in vivo* (Zmora a spol. 2012).

Snížení tvorby methanu *in vitro* bylo navozeno také podáním patentovaného přípravku s extraktem z *Curcuma aromatica* a to zejména u zvířat, která byla krmena slámou. Produkt je velmi jednoduchý, stabilní a může být široce používán (Matam a spol. 2013).

### 3.4 Silice a terpeny

Silice jsou představovány směsí monoterpenů o 10–50 (i více) složkách. Pokud jsou silice použity jako objekt studia, velmi záleží na jejich složení, resp. standardizaci. Z těchto důvodů jsou někdy výsledky problematické. Běžně jsou ke studiu používány silice známých rostlin (dobromysl, máta, česnek, blahovičnick, skořice a další) a to právě z důvodu jejich ověřeného antimikrobiálního účinku. Screening rostlinných (a mořských) zdrojů, resp. pokusy prováděné *in vitro* s řadou těchto surovin v poslední době ukazují, že toto studium je velmi produktivní a může přinést pozitivní a využitelné výsledky z hlediska inhibice tvorby methanu (Durmic a spol. 2013, Wanapat a spol. 2012).

Silice jsou jednou ze skupin látek, kterým je věnována velká pozornost z hlediska jejich biologických účinků, v tomto případě také z hlediska ovlivňování bachorové mikroflóry, resp. modifikace mikrobiální fermentace a tím procesů, které s ní souvisejí (Calsamiglia a spol. 2007). Po podání silic farmaceuticky významných rostlin bylo zjištěno výrazné snížení tvorby amoniaku z metabolismu aminokyselin v bachoru. Uvádí se, že tento efekt je zprostředkován

částečně vlivem na hyper-NH<sub>3</sub>-produkující bakterie a částečně efektem na protein a škrob fermentující bakterii *Ruminobacter amylophilus* (Wallace 2004). Patra publikoval přehledový článek (Patra, 2011) o účinku silic a jejich antimikrobiálním působení vůči nežádoucím mikroorganismům v bachoru a také jejich vztahu k inhibici methanogenze, zlepšení metabolismu proteinu a využitelnosti krmné dávky a také zvýšení tvorby CLA. Ačkoliv je uváděno jejich antimikrobiální působení *in vitro* (zejména některých jejich složek), nejsou u přežvýkavců výsledky z možného ovlivnění bachorové mikroflóry konzistentní. Jednoznačných výsledků může být dosaženo teprve po statisticky vyhodnocených pokusech *in vivo*, dostatečně opakovaných. Meta-analýze byly podrobeny studie o možném využití extraktů ze siličných rostlin (fermentační charakteristiky a využitelnost krmiva). Tyto látky brzdí činnost protozoí v dávce 200 mg/kg sušiny krmiva a vyšších, zatímco v nižších dávkách působí spíše jejich stimulaci. Vysoké dávky však nemusí nutně změnit bachorovou fermentaci, anebo zlepšit využitelnost krmiva (Khiaosa-ard a spol. 2013).

Časté jsou zprávy o studiu účinku silice z dobromysli (*Origanum vulgare*). Hristov se spolupracovníky uvádí patentovou přihlášku obsahující především nadzemní část dobromysli (*Origanum vulgare*) s obsahem thymolu, geraniolu, karvakrolu a derivátů hydroxykořicových kyselin pro snížení enterální produkce methanu. Doporučená denní dávka je 500 g listů/den (Hristov a spol. 2011). Toto sdělení patrně vychází z dřívějších experimentálních zkušeností – při sledování ruminální fermentace u mléčných krav po podání dobromysli (*Origanum vulgare*) byl zjištěno, že po podání dávky 500 g suchého vegetabilního materiálu (listy)/den při krmení se nezměnily sensorické parametry mléka a zvýšil se obsah mléčného tuku, došlo k významnému poklesu tvorby methanu v bachoru za 8 hodin po podání celkové dávky. Na základě experimentů se však zdá nepravidelné, že produkce methanu bude ovlivněna ve stejném rozsahu, resp. v průběhu celého cyklu krmení (Tekippe a spol. 2011). Byl také sledován vliv listů *Origanum vulgare* na ruminální fermentaci, tvorbu mléka a obsah mastných kyselin u dojníc. V dávce 250–750 g listů/dojnice/den nebylo pozorováno ovlivnění laktace ani mastných kyselin v mléce. Byla snížena produkce methanu (za 8 hodin po podání), po 24 hodinách však už toto snížení nebylo detekováno, *Orignaum vulgare* má tedy vliv pouze na snížení produkce methanu (Hristov a spol. 2013).

Při sledování účinku silic některých známých léčivých rostlin (*Jambosa caryophyllum*, *Eucalyptus globulus*, *Allium sativum*, *Origanum vulgare*, *Mentha x piperita*) na tvorbu methanu a procesy fermentace a mikrobiální profil v ruminální tekutině *in vitro* v dávce



0,25–1 g/litr ruminální tekutiny byly zjištěny výrazné inhibiční účinky z hlediska tvorby methanu. Vzhledem k antinutričnímu účinku těchto biologicky aktivních směsí (při použití nejvyšší koncentrace) lze uvažovat o použití jednotlivých silic jen tehdy, budou-li ve svém účinku synergizovány nějakou další látkou (Patra a spol. 2012). V případě sledování vlivu 14 rostlin a 88 druhů silic na ruminální fermentaci a produkci methanu se ukázalo, že pouze *Origanum vulgare* snižuje významněji produkci methanu (31 %); některé ze silic vykázaly také anti-methanogenní efekt (*Anethum graveolens*, *Lavandula latifolia*, *Ocimum basilicum* 20–30 %) a může být o nich uvažováno jako o perspektivním zdroji (Tekippe a spol., 2012).

Druhým taxonem, který je složením silice blízký dobromysli, je tymián (*Thymus vulgaris*), především z hlediska obsahu hlavních složek v silici (thymol, karvakrol). Ovlivnění produkce methanu bylo také sledováno za použití extraktu z tymiánu (*Thymus vulgaris*). Methanový extrakt z nati (0,25; 0,50 ml) byl ředěn ředěn ruminálním likvorem a byla použita 100% vojtěšková dieta. Výsledky pokusů ukázaly, že produkce methanu byla snížena za 4–96 hodin po aplikaci (Ahari a spol. 2011). Bohužel, metodické nastavení pokusu se nezdá být příliš šťastné; vojtěška obsahuje triterpenové saponiny, které mohou ovlivňovat ruminální fermentaci samy o sobě. Navíc je použití methanového extraktu poněkud problematické a nezvyklé z důvodu přítomnosti rozpouštědla. V další studii (přehledovém článku) se autoři zabývali nejen vlivem na methanogenezi ale i na mikrobiální aktivitu obsahových látek, a také na účinky digestivní, antioxidační, digestivní, imunostimulační, antivirové, anthelmintické. Ačkoliv je tymián běžným kořením v humánní praxi dobře známým a používaným, jeho využití ve výživě zvířat je poměrně nízké, chybí výsledky jednoznačných experimentů. Právě některé doplňkové vedlejší účinky by mohly být využitelné v komplexním zásahu snížení tvorby plynů (Mirzaei-Aghsaghali, 2012).

Další rostlinou, které je standardně věnována velká pozornost, je česnek (*Allium sativum*). Různé koncentrace česnekové silice (3, 30, 300, 3000 mg/litr) česnekové silice, diallylsulfidu, diallyldisulfidu, allicinu a allylmerkaptanu přidané k ruminální tekutině, vykázaly vliv na produkci methanu. Při koncentraci 300 mg/litr snížila silice, disallyldisulfid, a allylmerkaptan produkci methanu o 73,6, 68,5 a 19,5 % ve srovnání s kontrolou. Tyto výsledky potvrzují schopnost uvedených látek pozitivně zasáhnout do produkce methanu a přispět ke zlepšení využití úrovně bachorové energie (Busquet a spol. 2005). Extrakty (vodné, ethanolové, methanolové) připravené z několika druhů běžného koření (fenykl, česnek, cibule, hřebíček, zázvor) byly podrobeny studiu na inhibici methanogeneze, růst prvoků a inhibici

methanogeneze. Každý extrakt z těchto rostlin vykázal určitou fragmentární aktivitu, jediným druhem se zajímavým účinkem byl česnek (*Allium sativum*); jeho ethanolový a methanolový extrakt vykázal snížení tvorby methanu v bachoru, aniž by negativně ovlivnil bachorovou fermentaci (Patra a spol. 2006). Methanolové a ethanolové extrakty z fenyklu (*Foeniculum vulgare*) a česneku (*Allium sativum*) mají schopnost inhibovat methanogenezi v bachoru, bez nepříznivého ovlivnění ruminální fermentace (Patra a spol. 2010). Ovlivnění methanogeneze a mikrobiálního spektra bylo sledováno za použití dvou typů extraktů z česneku setého: normálního a deodorizovaného. Přísada česnekové silice ovlivňuje fermentační bachorové procesy (resp. mikrobiální profil), zvyšuje podíl propionátu na úkor acetátu a inhibuje methanogenezi. Účinnější se jevil nativní extrakt (Lu a spol. 2010). Silice podané ve smíšené dietě měly antimethanogenní aktivitu. Přísada *Allium sativum* ale není příliš příznivá, protože snižuje stravitelnost živin (využitelnost krmné dávky), protože může ovlivňovat tvorbu SCFN (Sirohi et al 2012). Jako zajímavé se ukazuje také použití česneku (*Allium sativum*) jako modifikátoru ekologické a ekonomické živočišné výroby. Antimikrobiálně účinné sekundární metabolity jsou selektivními inhibitory methanogeneze, nemají nepříznivý účinek na stabilitu krmiva a degradaci živin v bachoru. Tlumí účinek protein degradujících bakterií a ovlivňují příznivě tvorbu amoniaku v bachoru. Tato surovina čeká ještě na svoje příznivější zhodnocení (Kamra a spol. 2012). Pro inhibici ruminální methanogeneze byl podán patent na složení přípravku s obsahem siličných složek ze skořice (zdroj cinnamaldehydu) a česneku (zdroj diallyldisulfidu) (Ferrater a spol. 2009).

Skořice (*Cinnamomum zeylanicum*) je běžné koření a léčivá rostlina. Její silice s obsahem cinnamalkoholu a cinnamaldehydu má antibakteriální, antimykotické a spasmolytické účinky. V této studii byl sledován vliv vodno-alkoholového extraktu (saponiny, třísloviny, silice) z práškové kůry na methanogenezi a fermentační procesy v bachoru ve třech různých dietách s čirokem (dávka 1–3 ml tekutého extraktu/litr ruminální tekutiny). Nejvyšší účinek byl zaznamenán při použití 3 ml extraktu/litr ruminální tekutiny o 45,37 % (Goel a spol. 2011). *In vitro* byl sledován vliv aktivních složek některých silic (eugenol, karvakrol, citral a cinnamaldehyd) v kombinaci s fumarátem v 5 různých poměrech na fermentační aktivitu ruminální flóry (sledována hladina methanogenů, protozoa, houby, *Fibrobacter succinogenes* and *Ruminococcus flavefaciens*). Přísady těchto látek měly konzistentní vliv na bachorovou fermentaci, ale vyšší hladiny vyvolávají inhibici aktivity bachorových mikroorganismů. Přísada

fumarátu může zvýšit inhibiční účinek těchto látek na tvorbu methanu – působí synergicky, protože je vyšší než by odpovídalo běžnému stechiometrickému výpočtu (Lin a spol. 2013).

Z dalších farmaceuticky významných rostlin byla sledována silice z máty peprné (*Mentha x piperita*). Použití této silice inhibovalo *in vitro* ruminální methanogenezi aniž by ovlivňovalo základní parametry bachorové fermentace (Zmora a spol. 2012). Směs mátové silice a česnekových cibulí (*Allium sativum*) byla sledována z hlediska ruminální fermentace, mikrobiální profil v trávicím ústrojí a tvorbu methanu: ukázalo se, že tato směs je účinná u buvolů (Verma a spol. 2012).

Byl také sledován vliv silice z blahovičnicku (*Eucalyptus globulus*) na methanogenezi a fermentaci krmiva *in vitro* v ruminální tekutině bizonů. Tato směs monoterpenů potenciálně inhibuje produkci methanu, ovšem není dostatečně jasné, jaká dávka je potřebná pro odpovídající účinek *in vivo*, aniž by se neprojevíly vedlejší, nepříznivé účinky na využitelnost krmné dávky (Kumar, Kamra a spol. 2009).

Při posuzování vlivu silice z citroníku čínského (*Citrus sinensis*) byla shledána jeho výrazná antimikrobiální aktivita, která inhibuje většinu fermentačních procesů. Z tohoto důvodu musí být provedeno hlubší stanovení vlivu této silice na příjem potravy, výkon zvířat a celkový profit *in vivo* (Kamalak a spol. 2011).

### 3.5 Ostatní sekundární metabolity

Z těchto látek hraje významnou roli použití statinů. inhibitory HMG-CoA reductasy mají příznivý vliv na methanogenezi ovlivněním archont (Liu a spol. 2011). Tyto inhibitory mají schopnost zasáhnout do metabolismu isoprenoidů nutných pro výstavbu buněčné stěny archeí. Kvasné bakterie v bachoru neinhibují (jejich lipidy jsou tvořeny estery mastných kyselin s dlouhým řetězcem s glycerolem). V této souvislosti bylo zjištěno, že lovastatin má inhibiční účinek na ruminální methanogenezi, zasahuje výrazně do exprese HMG-CoA reductázy, klíčového enzymu pro výstavbu buněčné membrány methanogenních archeí (Jahromi a spol. 2013). Mevastatin a lovastatin (10 nM) inhibovaly růst kmenů ruminálního mikroorganismu rodu *Methanobrevibacter*. Neinhibovaly růst kmenů bakterií *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes* a *Selenomonas ruminantium*, které jsou zásadní pro ruminální fermentaci (štěpení celulózy, škrobu a dalších rostlinných polysacharidů (Wolin a spol. 2006). V případě lovastatinu byla sledována

fermentace *Monascus* (*Monascus ruber*, mikromyceta z oddělení Ascomycota) na pevné fázi (SSF), v tomto případě na rýžové slámě, která může být použita pro supresi methanogeneze v ruminálním ekosystému se všemi návaznostmi (ovlivnění mikrobiálního spektra v bachoru). Tento produkt snižuje nejen produkci methanu, ale také totální populaci methanogenů a zvyšuje hladiny celulolytických bakterií (*Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* a *Ruminococcus flavefaciens*) (Faseleh a spol. 2013). Ačkoliv metabolity houby *Monascus* mají inhibiční účinek na methanogenezi *in vitro*, krátkodobě *in vivo* jsou bez zjevného negativního vlivu na bachorovou fermentaci a ukazují se jako potenciálně využitelné pro toto ovlivnění (Morgavi a spol. 2013), pokládáme praktické využití této látky za záležitost velmi problematickou. Jsme toho názoru, že aplikace by nebyla vhodná, protože statiny představují v současnosti významná léčiva (léčba hypercholesterolemii). Je pravdou, že lovastatin se už prakticky nepoužívá, nicméně při pravidelné podprahové koncentraci v přijímaných potravinách může existovat určité nebezpečí genové exprese, resp. ovlivnění izoenzymů CYP450 a tím terapeutických problémů.

Z ostatních sloučenin se jako zajímavá látka může jevit antibiotikum aibellin. V roce 1993 bylo jako zcela nová látka poprvé izolováno z fermentační tekutiny kultury *Verticimonosporium ellipticum* a určena jeho struktura. Prvotní pokusy ukázaly, že zvyšuje produkci propionátu a snižuje methanogenezi u ruminálních mikroorganismů (Kumazawa a spol. 1993). Prakticky ve stejném období byly publikovány zprávy o rozpracovaných studiích. Tento eikosapeptid výrazně modifikuje ruminální fermentaci *in vitro*: skutečně zvyšuje produkci propionátu, snižuje úroveň methanogeneze, aniž by výrazně ovlivnil produkci celkových VFA, přežívání protozoí a trávení celulózy. Má výhodnější vlastnosti než dříve široce používaný monensin a mohl by být použit jako významný modifikátor ruminální fermentace (Hino a spol. 1993). Od 90. let minulého stěletí do současnosti však existuje pouze 7 prací, které se aibellinem zabývají tématem s nevýraznou praktickou využitelností.

#### 4 PRIMÁRNÍ METABOLITY

Ačkoliv primární metabolity nejsou v přímém zájmu této studie, nebylo by vhodné je do tohoto přehledu nezahrnout, protože se v řadě případů uplatňují v kombinaci buď se sekundárními metabolity anebo s potravinářskými (sekundárními) surovinami, která mají perspektivu být využity v živočišné výrobě.

#### 4.1 Alifatické hydroxykyseliny

Jednou z diskutovaných látek je kyselina fumarová. Nezdá se být vhodným prostředkem pro ovlivnění archeí, protože nesnižuje produkci methanu v bachoru, dochází pouze ke zvýšení tvorby SCFA (Riede a spol. 2013). Po meta-analýze prací, zabývajících se vlivem této látky na mikroorganismy bachoru se ukázalo, že podávání fumarátu po delší dobu do krmiva může zesílit jinak malé populace reduktorů této kyseliny. Některé z těchto mikroorganismů mohou být užitečné pro zlepšení přeměny fumarátu na propionát. Strategie založená na zvyšování kapacity bachoru z hlediska převodu fumarátu na propionát a udržování nízké koncentrace fumarátu se zdá být efektivní. Z těchto pokusů vyplynulo, že při navrhování strategií pro snižování produkce methanu je třeba vzít v úvahu přítomnost externích elektronových akceptorů (Ungerfeld a spol. 2007). Po aplikaci linolenové kyseliny s kyselinou fumarovou nebo jablečnou se zvyšuje tvorba CLA a snižuje se tvorba methanu ruminálními mikroorganismy (Li a spol. 2009). Na biologickou aktivitu siličných složek z hlediska produkce methanu *in vitro* má také výrazný vliv způsob podání; např. vazba na cyklodextrin významně ovlivňuje parametry účinku. Může se zde příznivě uplatnit také vliv současně přidaných organických kyselin, jako fumarové a jablečné kyseliny. Z hlediska inhibice tvorby methanu se ukázalo, že kyselina fumarová je významně účinnější než jablečná (Tatsuoka a spol. 2008).

#### 4.2 Mastné kyseliny

MCFA jsou velmi atraktivní skupinou látek, které začaly být používány kromě potravinářství také v živočišné výrobě. U kyselin typu C12:0 a C14:0 byl sledován potenciální synergický efekt v tekutině bachoru z hlediska methanogeneze (Hohenheim test). Při samostatném použití tlumí methanogenezi v nejvyšší míře pouze kyseliny C12:0, v případě směsi C12:0 a C14:0 však byly zaznamenány také využitelné výsledky. Je však zřejmé, že tento typ kyselin může být vhodnou doplňkovou látkou v krmivu (Soliva a spol. 2002).

K ovlivnění defaunace v bachoru u ovcí byl použit kokosový tuk (obsahující vedle MCFA jejich glycerol-estery), který snížil tvorbu methanu (Machmueller a spol. 2003). Z hlediska ovlivnění methanogeneze byly provedeny testy *in vitro* (8 pokusů) i *in vivo* (4 pokusy) s MCFA (získanými hydrolýzou z kokosového tuku), v nichž bylo provedeno srovnání s kokosovým tukem a LCFA. Kromě sledování vlivu konkrétních MCFA na methanogenezi, celkového vlivu na bachor a trávící ústrojí, krmivářských parametrů umožňujících případné využití inhibičních účinků MCFA na methanogenezi, možné náhrady kokosového tuku (olej z palmových jader,

olej z geneticky modifikované řepky), byly hodnoceny další parametry. Z těchto pokusů vyplynul poměrně detailní přehled mnoho interakcí uvnitř batoru, z nichž se došlo k závěru, že efektivní je přísada 3 % MCFA do krmiva (kyseliny C12:0 a C14:0), která snižuje tvorbu methanu *in vivo* až o 50 % (Machmueller 2006).

Zdá se, že krmivovým faktorem pro snížení batorové methanogeneze mohou být mastné kyseliny lněných semen. Deprese produkce methanu u dojnic je závislá na formě, v jaké jsou mastné kyseliny podávány (lněný olej, nativní semena a semena extrudovaná) v souvislosti s dalšími složkami krmiva. Mohou se zde objevit určité nežádoucí efekty suroviny (v profilu mléčného tuku v závislosti na chemovaru použitého lnu) a je proto třeba nalézt optimální míru, aby případné použití lněných mastných kyselin mohlo být akceptováno pro mlékárenský průmysl (Martin a spol. 2008). Obsahové látky lněných semen zasahují do exprese genu produkujících methan v batoru dojnic. Je však třeba se zaměřit na mechanismus účinku těchto látek z hlediska tvorby methanu a současně na genovou expresi u methanogenů (Li a spol. 2012). Je otázkou, zda rozhodující roli v tomto ovlivnění hrají opravdu klasické mastné kyseliny, anebo další látky lněných semen, především lignany typu sekoisolariciresinolu, které jsou v zažívacím ústrojí živočichů intenzivně metabolizovány.

#### 4.3 Polysacharidy

Byla sledována stravitelnost rýže a rýžových otrub v krmné dávce s ohledem na produkci methanu *in vitro* v ruminální tekutině. Ukázalo se, že v případě FTMR byla vyšší stravitelnost a nižší tvorba methanu než při hodnocení fresh TMR s ohledem na finální pH, které přispívá ke konverzi laktátu na propionát a inhibuje produkci ruminálního methanu (Cao a spol. 2012). Nativní rýžové otruby snižují produkci methanu v batoru *in vitro*. 10% suplementace otrubami snižuje methanogenezi o 25 % ve srovnání s kontrolou po 24hodinové inkubaci batorové fermentační tekutiny *in vitro*. Přitom nebyla zjištěna změna v obsahu SCFA, jejich profil však byl do určité míry změněn (Masui a spol. 2013).

Některé vedlejší produkty ze zpracování potravin s obsahem polysacharidů jsou vyhodnocovány jako slibné aditivní přísady do krmiv. Např. při studiu (Hohenheim *in vitro* gas test) esterifikovaných citrusových a jablečných pektinů, slupek plodu mango a těchto depektinovaných slupek, fenolového extraktu z oplodí mango a kyseliny gallové se ukázalo, že nejvyššího poklesu tvorby methanu (o 19 %) bylo dosaženo vysokou přísadou níže esterifikované citrusového pektinu (dieta seno), aniž by byla výrazně ovlivněna tvorba plynu.

Tato surovina představuje slibnou surovinu pro ovlivnění tvorby methanu (Geerkens a spol. 2013), nikoliv ovšem pro naši geografickou oblast.

## 5 ADITIVNÍ METODY OVLIVNĚNÍ METHANOGENEZE U PŘEŽVÝKAVCŮ

Významnou roli v methanogenezi při použití siláže může hrát podle řady autorů její kvalita. Při pokusech *in vitro* se silážemi se ukázalo, že pokud byly inokulovány ruminálními mikroorganismy, snížila se produkce methanu. Z tohoto důvodu je nutné věnovat velkou pozornost pochopení mikrobiologie siláží a přípravě siláží (Muck 2013). Při použití různých siláží u dojnic se ukazuje, že siláže s převahou bobovitých rostlin a kukuřice snižují produkci methanu v porovnání se silážemi z travních porostů, je sníženo množství zkvasitelného základu v porovnání s travními silážemi, u nichž byl fermentační proces omezen vysokými hladinami kyselých přísad (Dewhurst 2013). Řešení této záležitosti však není tak jednoduché, jak by se na první pohled mohlo zdát.

Je také sledováno možné využití některých vysoce bezpečných mikroorganismů pro ovlivnění ruminálního profilu využívajících acetogenní bakterie, např. *Proteiniphilum acetatigenes* SROD1 (KCCM11219P) (Lee a spol. 2013).

## 6 ZHODNOCENÍ PRO ŽIVOČIŠNOU PRAXI

Strategie, jak snížit methanogenezi u přežvýkavců a využitelnost aktivních látek přírodní povahy jsou stále častěji tématem publikací; jedná se o živé a velmi potřebné téma. Tvorba plynů významně závisí na podílu jednotlivých složek živin v krmné dávce a také na její velikosti. Cereálie přispívají ke snížení tvorby methanu více než složky krmiva bohaté pouze na vlákninu (sena). Emisi methanu rovněž snižuje zvýšení obsahu tuků v krmivu. Použití kukuřičné siláže vede k nižší emisi než krmiva ze sena nebo silážní píce. Existují však rozdíly založené na získání surovin v různých vegetačních stádiích, nebo mezi travinami a luskoviny, které jsou někdy malé a někdy kontroverzní. Z hlediska ovlivnění ruminálních procesů byla studována poměrně široká skupina rostlin, případně extraktů z nich, ale je třeba zvážit jejich vliv na riziko snížení využitelnosti krmné dávky. Biotechnologie, které mohou snížit tvorbu vodíku, jsou sice slibné, ale nejsou dosud kvantitativně ověřeny stájovými pokusy. Zvýšení efektivity v produkci hospodářských zvířat snižuje produkci methanu, což je vyjádřitelné produkcí methanu na kg mléka a masa, ale tento faktor nemůže být brán jako absolutní (vyskytuje se zde otázka cenových relací v produkci mléka a masa). Existují také rozdíly mezi zvířecími druhy z hlediska jejich globální užitkovosti; při efektivní produkci hospodářských zvířat je celková hodnota methanu na kg mléka a masa snížena. Je nutné podívat se za hranice enterální produkce methanu a vyhodnotit účinnost všech strategií použitelných pro snížení produkce skleníkových plynů (Doreau a spol. 2011).

Tvorba methanu v trávicím traktu přežvýkavců metabolismem archeí představuje ztrátu 2–12 % energie metabolizovatelné z krmné dávky. Celosvětově dochází k tvorbě asi 80 milionů tun methanu ročně hlavně z fermentačních procesů přežvýkavců. Snížení tvorby u přežvýkavců je vázáno především na vyvážení poměru ekonomických a ekologických výhod. Některé možnosti zmírnění produkce sice velmi dobře probíhají *in vitro* (chemoterapeutika, ionofory, defaunace), nicméně z praktického hlediska obtížně naplnitelné. Nutriční změny, jako je zvýšení obsahu obilnin, luštěnin, vegetabilních zdrojů s kondenzovanými tříslovinami a ionofory, náhrada nekvalitních objemných krmiv zdroji bílkovin, snadno zkvasitelných sacharidů a tuků, je cestou k snížení tvorby methanu. Tyto nutriční změny také zvyšují efektivitu využití krmiva a představují otázku blízké doby. Některé nové, potenciálně využitelné technologie, jako je využití sekundárních metabolitů rostlin, probiotik, stimulátorů tvorby propionátu, stimulace acetogenních bakterií, oxidace methanu methylotrófními



mikroorganismy, genetická selekce s nízkou produkcí methanu, vyžaduje ještě rozsáhlý praktický výzkum, než budou moci být zařazeny do každodenního života. Naskýtá se také možnost využití bakteriocinů, bakteriofágů a rekombinantních vakcín zaměřených na specifické geny archaeí a proteiny na povrchu buněk – tyto metody jsou však ještě vzdálenější než metody dříve uvedené. Základní zásah, který je zde nutné realizovat, je systematický a komplexní monotematický výzkum s výsledky, které budou prakticky využitelné (Patra 2012). Srovnávání výše uvedených přístupů (zvýšení produktivity zvířete x snížení produkce methanu) ukazují, že některé postupy pro snížení emisí methanu nemají reálnou možnost být v budoucnosti využity a bude nutné přejít na integrovaný systém komplexnějšího zásahu do fyziologie těchto zvířat, přes aplikaci synbiotik až k využití vhodných sekundárních metabolitů rostliny (Iqbal a spol. 2008, Williams a spol. 2011).

Pro přípravu vakcíny je navržen např. *Methanobrevibacter ruminantium* kmen M1T (DSM 1093). Složky buněčné stěny této bakterie (především peptidy a polypeptidy) jsou po určení sekvence použity pro získání protilátek. Existuje zde snaha o produkci polyvalentní vakcíny (Altermann a spol. 2009), nicméně její praktické využití je prozatím v nedohlednu.

Při zvážení všech faktorů, které zde byly řečeny, jsou perspektivy snižování produkce methanu u přežvýkavců (resp. úkoly, které je nutné naplnit) následující:

- 1) **Vybrat z pokusů *in vitro***, které byly provedeny se sekundárními metabolity **perspektivní studie**, které musí být ověřeny *in vivo* a tyto dále rozpracovat,
- 2) **Zjistit, do jaké míry mohou inkriminované sekundární metabolity ovlivnit metabolismus přežvýkavců z negativního pohledu** (snížení využitelnosti krmné dávky ve smyslu antinutričního účinku, ovlivnění isoenzymových systémů cytochromu P450 (CYP), které mají zásadní vliv na metabolismus exogenních látek (zástupci rodiny cytochromu P450 se podílejí např. na metabolismu toxických produktů mikromycet, běžně přítomných a neodstranitelných z krmiva. Pokud by byly tyto enzymy ovlivněny tak, že metabolismus toxických látek z mikromycet by byl prodloužen, jsou zcela nevhodné pro jakékoliv další použití),
- 3) **V případě sekundárních metabolitů**, u nichž se uvažuje o využití **zvážít, zda jejich metabolické produkty neovlivňují organoleptické vlastnosti** masa a mléka (týká se především silic),

- 4) **Optimalizovat krmnou dávku** využívající **především jadrných krmiv** na úkor krmiv objemných; tento bod se z komerčního hlediska jeví jako velmi problémový (cena krmiva a tím i konečného produktu), pro určitou optimalizaci však mantinely existují,
- 5) **Zabývat se kvalitativním složením siláží**, resp. zvýšit podíl kukuřice a bobovitých rostlin na úkor travních komponent, zajistit „čistotu“ siláží včetně inokulace vhodnými mikroorganismy, které mohou přispět ke snížení methanogeneze archeí,
- 6) **Populace chovných zvířat volit podle vhodné genetické výbavy**; jedním z posuzovaných faktorů při šlechtění by měla být co **nejnižší bazální produkce methanu**,
- 7) **K inokulaci trávicího traktu** zvířat **použít vysoce bezpečných bakterií** acetogenního charakteru **ke změně mikrobiálního profilu** u přežvýkavců. Jedná se o perspektivní, avšak velmi obtížný úkol, u něhož však nebyla dosud zvažena všechna rizika.

## 7 LITERATURA

- Ahari, K. M.; Salamatdoustnobar, R.; Maheri-S., N.; Gorbani, A.; Shabestari, A. H.; Noshadi, A.; Samadi, H.; Nezhad, J. S.: Effects of the thyme extract on the ruminal methane production. *Pakistan Journal of Nutrition* (2011), 10(12), 1146–1148.
- Aktas, B.; Akkan, S.: Determination the effects of oak tannin supplemented to cattle fattening feed on rumen fermentation studied by rumen simulation technique (Rusitec). *Ege Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi* (2011), 48(3), 249–254; *Chem. Abstr.* (2012), 344963.
- Altermann, E. H.; Attwood, G. T.; Dong, L.; Kelly, W. J.; Kong, Z.; Leahy, S.: Vaccines and vaccine components for inhibition of methanogen cells based on the genome sequence of *Methanobrevibacter ruminantium*. *PCT Int. Appl.* (2009), WO 2009041832 A2 20090402.
- Bekele, A. Z.; Clement, C.; Kreuzer, M.; Soliva, C. R.: Efficiency of *Sesbania sesban* and *Acacia angustissima* in limiting methanogenesis and increasing ruminally available nitrogen in a tropical grass-based diet depends on accession. *Animal Production Science* (2009), 49(2), 145–153.
- Bhatta, R.; Baruah, L.; Saravanan, M.; Suresh, K. P.; Sampath, K. T.: Effect of medicinal and aromatic plants on rumen fermentation, protozoa population and methanogenesis in vitro. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (2013), 97(3), 446–456.
- Bhatta, R.; Mani, S.; Baruah, L.; Sampath, K. T.: Phenolic composition, fermentation profile, protozoa population and methane production from sheanut (*Butyrospermum parkii*) byproducts in vitro. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (2012a), 25(10), 1389–1394.
- Bhatta, R.; Saravanan, M.; Baruah, L.; Sampath, K. T.: Nutrient content, in vitro ruminal fermentation characteristics and methane reduction potential of tropical tannin-containing leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2012b), 92(15), 2929–2935.
- Bhatta, R.; Saravanan, M.; Baruah, L.; Sampath, K. T.; Prasad, C. S.: Effect of plant secondary compounds on in vitro methane, ammonia production and ruminal protozoa population. *Journal of Applied Microbiology* (2013), 115(2), 455–465.
- Bhatta, R.; Uyeno, Y.; Tajima, K.; Takenaka, A.; Yabumoto, Y.; Nonaka, I.; Enishi, O.; Kurihara, M.: Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science* (2009), 92(11), 5512–5522.
- Bodas, R.; Prieto, N.; Garcia-Gonzalez, R.; Andres, S.; Giraldez, F. J.; Lopez, S.: Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology* (2012), 176(1–4), 78–93.
- Busquet, M.; Calsamiglia, S.; Ferret, A.; Carro, M. D.; Kamel, C.: Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* (2005), 88(12), 4393–4404.
- Calsamiglia, S.; Busquet, M.; Cardozo, P. W.; Castillejos, L.; Ferret, A.: Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* (2007), 90(6), 2580–2595.

- Cao, Y.; Takahashi, T.; Horiguchi, K.-I.; Yoshida, N.; Zhou, D.: In vitro ruminal dry matter digestibility and methane production of fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. *Grassland Science* (2012), 58(3), 133–139.
- Cieslak, A.; Zmora, P.; Pers-Kamczyc, E.; Szumacher-Strabel, M.: Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. *Animal Feed Science and Technology* (2012), 176(1–4), 102–106.
- Dewhurst, R. J.: Milk production from silage: comparison of grass, legume and maize silages and their mixtures. *Agricultural and Food Science* (2013), 22(1), 57–69.
- Dolejš, J.; Toufar, O.; Knížek, J.; Adamec, I.: Uvolňování plynů z výkalů dojníc na pastvině. Sborník referátů z mezinárodní vědecké konference Bioclimatology and Natural Hazards (Střelcová, K.; Škvarenina, J.; Blaženec, M., eds), Polana n. Detvou, 17.–20. září 2007 (český reprint), 5 s.
- Doreau, M.; Martin, C.; Eugene, M.; Popova, M.; Morgavi, D. P.: Tools for decreasing enteric methane production by ruminants. *INRA Productions Animales* (2011), 24(5), 461–474.
- Durmic, Z.; Moate, P. J.; Eckard, R.; Revell, D. K.; Williams, S. R. O.; Vercoe, P. E.: In Vitro Screening Of Selected Feed Additives, Plant Essential Oils And Plant Extracts For Rumen Methane Mitigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2013), DOI:10.1002/jsfa.6396
- Fabian, P.: *Leben im Treibhaus. Unser Klimasystem – und was wir daraus machen.* Springer-Verlag, New York 2002.
- Faseleh, J. M.; Liang, J. B.; Mohamad, R.; Goh, Y. M.; Shokryazdan, P.; Ho, Y. W.: Lovastatin-enriched rice straw enhances biomass quality and suppresses ruminal methanogenesis. *BioMed Research International* (2013), 2013397934.
- Feng, Z.; Gao, Y.; Li, J.: Saponins: modulation of rumen fermentation and performance of ruminants. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2010), 22(6), 1515–1522; *Chem. Abstr.* (2011), 273119.
- Ferrater, M., Joan, C.; Kamel, L. Ch.; Fernandez, M., Juan, A.; Sanroma, V., N.: Feed additive containing garlic and cinnamon for use in ruminants. *PCT Int. Appl.* (2009), WO 2009150264 A1 20091217.
- Flachowsky, G.; Lebzien, P.: Effects of phytogetic substances on rumen fermentation and methane emissions: A proposal for a research proces. *Animal Feed Science and Technology* (2012), 176(1–4), 70–77.
- Geerkens, Ch. H.; Schweiggert, R. M.; Steingass, H.; Boguhn, J.; Rodehutschord, M.; Carle, R.: Influence of Apple and Citrus Pectins, Processed Mango Peels, a Phenolic Mango Peel Extract, and Gallic Acid as Potential Feed Supplements on in Vitro Total Gas Production and Rumen Methanogenesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2013), 61(24), 5727–5737.
- Goel, G.; Makkar, H. P. S.; Becker, K.: Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology* (2008a), 147(1–3), 72–89.

- Goel, G.; Makkar, H. P. S.; Becker, K.: Changes in microbial community structure, methanogenesis and rumen fermentation in response to saponin-rich fractions from different plant materials. *Journal of Applied Microbiology* (2008b), 105(3), 770–777.
- Goel, N.; Sirohi, S. K.; Dwivedi, J.: Studies on the effects of methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* on in vitro methane inhibition and rumen fermentation patterns. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* (2011), 3(6), 609–615.
- Görtz, H. D.: Intracellular bacteria in ciliates. *International Microbiology* (2001), 4, 143–150.
- Guo, X.; Liu, J.; Sun, L.; Gao, J.; Zhang, S.: Effects of licorice extracts on rumen fermentation and methane yield of sheep in vitro. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2012), 24(8), 1548–1556; *Chem. Abstr.* (2012), 1789118.
- Guo, Y. Q.; Liu, J. X.; Lu, Y.; Zhu, W. Y.; Denman, S. E.; McSweeney, C. S.: Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro-organisms. *Letters in Applied Microbiology* (2008), 47(5), 421–426.
- Hariadi, B. T.; Santoso, B.: Evaluation of tropical plants containing tannin on in vitro methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2010), 90(3), 456–461.
- Hart, K. J.; Yanez-Ruiz, D. R.; Duval, S. M.; McEwan, N. R.; Newbold, C. J.: Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* (2008), 147(1–3), 8–35.
- Hassanat, F.; Benchaar, Ch.: Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2013), 93(2), 332–339.
- Hess, H. D.; Kreuzer, M.; Diaz, T. E.; Lascano, C. E.; Carulla, J. E.; Soliva, C. R.; Machmuller, A.: Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology* (2003), 109(1–4), 79–94.
- Hino, T.; Takeshi, K.; Kanda, M.; Kumazawa, S.: Effects of aibellin, a novel peptide antibiotic, on rumen fermentation in vitro. *Journal of Dairy Science* (1993), 76(8), 2213–2221.
- Holtshausen, L.; Chaves, A. V.; Beauchemin, K. A.; McGinn, S. M.; McAllister, T. A.; Cheeke, P. R.; Benchaar, C.: Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *C. saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* (2009), 92(6), 2809–2821.
- Hristov, A. N.; Lee, C.; Cassidy, T.; Heyler, K.; Tekippe, J. A.; Varga, G. A.; Corl, B.; Brandt, R. C.: Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* (2013), 96(2), 1189–1202.
- Hristov, A.; Varga, G.; Tekippe, J.: Plant-derived feed supplement for reducing methane production from ruminant species. *PCT Int. Appl.* (2011), WO 2011153299 A2 20111208.
- Hu, W.-l.; Wu, Y.-M.; Liu, J.-X.; Guo, Y.-Q.; Ye, J.-A.: Tea saponins affect in vitro fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Journal of Zhejiang University, Science, B* (2005), 6B(8), 787–792; *Chem. Abstr.* (2005), 1007123.

- Huang, X. D.; Liang, J. B.; Tan, H. Y.; Yahya, R.; Ho, Y. W.: Effects of Leucaena condensed tannins of differing molecular weights on in vitro CH<sub>4</sub> production. *Animal Feed Science and Technology* (2011), 166–167, 373–376.
- Iqbal, M. F.; Cheng, Y.-F.; Zhu, W.-Y.; Zeshan, B.: Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* (2008), 24(12), 2747–2755.
- Jahromi, M. F.; Liang, J. B.; Mohamad, R.; Goh, Y. M.; Shokryazdan, P.; Ho, Y. W.: Lovastatin-enriched rice straw enhances biomass quality and suppresses ruminal methanogenesis. *BioMed Research International* (2013), 397934, 13 pp.
- Jelínek, A.; Plíva, P.: Emise methanu ze zemědělské činnosti. *Biom.cz* [online]. 2003-08-04 [cit. 2013-10-26], <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/emise-methanu-ze-zemedelske-cinnosti>.
- Kamalak, A.; Atalay, A. I.; Ozkan, C. O.; Tatliyer, A.; Kaya, E.: Effect of essential orange (*Citrus sinensis* L.) oil on rumen microbial fermentation using in vitro gas production technique. *Journal of Animal and Plant Sciences* (2011), 21(4), 764–769.
- Kamra, D. N.; Agarwal, N.; Sakthivel, P. C.; Chaudhary, L. C.: Garlic as a rumen modifier for eco-friendly and economic livestock production. *Journal of Applied Animal Research* (2012), 40(2), 90–96.
- Kamra, D. N.; Agarwal, Neeta; Chaudhary, L. C.: Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series* (2006), 1293(Greenhouse Gases and Animal Agriculture: An Update), 156–163; *Chem. Abstr.* (2008), 162543.
- Khiaosa-ard, R.; Zebeli, Q.: Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science* (2013), 91(4), 1819–1830.
- Klaban, V.; Svět mikrobů; ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí.: Gaudeamus, Hradec Králové 2001, s. 416.
- Kumar, R.; Kamra, D. N.; Agarwal, N.; Chaudhary, L. C.: Effect of eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Nutrition and Feed Technology* (2009), 9(2), 237–243.
- Kumar, R.; Kamra, D. N.; Agarwal, N.; Chaudhary, L. C.; Zadbuke, S. S.: Effect of tree leaves containing plant secondary metabolites on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Nutrition and Feed Technology* (2011), 11(1), 103–114.
- Kumazawa, S.; Kanda, M.; Aoyama, H.; Utagawa, M.; Kondo, J.; Yoshikawa, N.; Mikawa, T.; Chiga, I.; Hayase, T.; a spol.: Structure of aibellin, a new peptide antibiotic that modifies rumen fermentation. *Peptide Chemistry* (1993), 31st, 137–140.
- Lee, S. S.; Kim, S. H.; Ku, M. J.; Cha, B. Y.; Jung, Ch. D.; Jeon, Ch. O.: Microorganism capable of reducing methane produced in ruminant stomach of ruminant animals and its uses. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo* (2013), KR 2013050856 A 20130516; *Chem. Abstr.* (2013), 784404.

- Leiber, F.; Kunz, C.; Kreuzer, M.: Influence of different morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its major secondary metabolite rutin on rumen fermentation in vitro. *Czech Journal of Animal Science* (2012), 57(1), 10–18.
- Li, L.; Schoenhals, K. E.; Brady, P. A.; Estill, C. T.; Perumbakkam, S.; Craig, A. M.: Flaxseed supplementation decreases methanogenic gene abundance in the rumen of dairy cows. *Animal* (2012), 6(11), 1784–1787.
- Li, X. Z.; Choi, S. H.; Jin, G. L.; Yan, C. G.; Long, R. J.; Liang, C. Y.; Song, M. K.: Linolenic acid in association with malate or fumarate increased CLA production and reduced methane generation by rumen microbes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (2009), 22(6), 819–826.
- Lila, Z. A.; Mohammed, N.; Kanda, S.; Kamada, T.; Itabashi, H.: Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro. *Journal of Dairy Science* (2003), 86(10), 3330–3336.
- Lila, Z. A.; Mohammed, N.; Kanda, S.; Kurihara, M.; Itabashi, H.: Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methane production, digestibility and blood metabolites in steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (2005), 18(12), 1746–1751.
- Lin, B.; Wang, J. H.; Lu, Y.; Liang, Q.; Liu, J. X.: In vitro rumen fermentation and methane production are influenced by active components of essential oils combined with fumarate. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (2013), 97(1), 1–9.
- Liu, H.; Wang, J.; Wang, A.; Chen, J.: Chemical inhibitors of methanogenesis and putative applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* (2011), 89(5), 1333–1340.
- Lu, Y.; Lin, B.; Wang, T.; Shi, F.; Liu, J.: Effects of garlic oils addition on rumen fermentation, methanogenesis and microbiota in vitro. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2010), 22(2), 386–392; *Chem. Abstr.* (2010), 623713.
- Machmueller, A.: Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agriculture, Ecosystems & Environment* (2006), 112(2–3), 107–114.
- Machmueller, A.; Soliva, C. R.; Kreuzer, M.: Effect of coconut oil and defaunation treatment on methanogenesis in sheep. *Reproduction, Nutrition, Development* (2003), 43(1), 41–55.
- Martin, C.; Rouel, J.; Jouany, J. P.; Doreau, M.; Chilliard, Y.: Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science* (2008), 86(10), 2642–2650.
- Matam, Ch.; Appoorthy, T.; Madaiajagan, B.; Jose, V. L.: Reduction of methane emission. *Indian Pat. Appl.* (2013), IN 2012CH00087 A 20130712; *Chem. Abstr.* (2013), 1134083.
- Matsui, H.; Wakabayashi, H.; Fukushima, N.; Ito, K.; Nishikawa, A.; Yoshimi, R.; Ogawa, Y.; Yoneda, S.; Ban-Tokuda, T.; Wakita, M.: Effect of raw rice bran supplementation on rumen methanogen population density and in vitro rumen fermentation. *Grassland Science* (2013), 59(3), 129–134.
- McAllister, T. A.; Newbold, C. J.: Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture* (2008), 48(1–2), 7–13.
- Mirzaei-Aghsaghali, A.; Syadati, S. A.; Fathi, H.: Some of thyme (*Thymus vulgaris*) properties in ruminant's nutrition. *Annals of Biological Research* (2012), 3(2), 1191–1195.

- Mitsumori, M.; Enishi, O.; Shinkai, T.; Higuchi, K.; Kobayashi, Y.; Takenaka, A.; Nagashima, K.; Mochizuki, M.; Kobayashi, Y.: Effect of cashew nut shell liquid on metabolic hydrogen flow on bovine rumen fermentation. *Animal science journal = Nihon Chikusan Gakkaiho* (2013); PubMed ID:24128067
- Morgavi, D. P.; Forano, E.; Martin, C.; Newbold, C. J.: Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal* (2010), 4, 1024–1036.
- Morgavi, D. P.; Martin, C.; Boudra, H.: Fungal secondary metabolites from *Monascus* spp. reduce rumen methane production in vitro and in vivo. *Journal of Animal Science* (2013), 91(2), 848–860.
- Muck, R.: Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science* (2013), 22(1), 3–15.
- Nátr, L.: Země jako skleník: Proč se bát CO<sub>2</sub>? Academia, Praha 2006, s. 51.
- Nitkulincová, A.: Společenstvo methanotrofních bakterií v půdách zimoviště skotu. Diplomová práce, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice 2011, 86 s.
- Nováková L.: Anaerobní nálevníci. Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta UK, Praha 2009, 32 s.
- Ok, J. U.; Baek, Y. Ch.; Kim, K. H.; Lee, S. Ch.; Seol, Y. J.; Lee, K. Y.; Choi, Ch. W.; Jeon, Ch. O.; Lee, S. S.; Lee, S. S.: Effects of saponin contained plant extracts on ruminal fermentation characteristics and methane production. *Journal of Animal Science and Technology* (2010), 53(2), 147–154.
- Patra, A. K.: Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* (2011), 6(5), 416–428.
- Patra, A. K.: Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. *Environmental Monitoring and Assessment* (2012), 184(4), 1929–1952.
- Patra, A. K.: Meta-analyses of effects of phytochemicals on digestibility and rumen fermentation characteristics associated with methanogenesis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2010), 90(15), 2700–2708.
- Patra, A. K.; Kamra, D. N.; Agarwal, N.: Effect of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology* (2006a), 128(3–4), 276–291.
- Patra, A. K.; Kamra, D. N.; Agarwal, N.: Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in in vitro gas production test. *International Congress Series* (2006), 1293(Greenhouse Gases and Animal Agriculture: An Update), 176–179; chem. Abstr. (2008), 162547.
- Patra, A. K.; Kamra, D. N.; Agarwal, N.: Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2010), 90(3), 511–520.
- Patra, A. K.; Saxena, J.: A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* (2010), 71(11–12), 1198–1222.



- Patra, A. K.; Saxena, J.: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek* (2009a), 96(4), 363–375.
- Patra, A. K.; Saxena, J.: The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutrition Research Reviews* (2009), 22(2), 204–219.
- Patra, A. K.; Yu, Z.: Effective reduction of enteric methane production by a combination of nitrate and saponin without adverse effect on feed degradability, fermentation, or bacterial and archaeal communities of the rumen. *Bioresource Technology* (2013), 148, 352–360.
- Patra, A. K.; Yu, Z.: Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology* (2012), 78(12), 4271–4280.
- Pen, B.; Takaura, K.; Yamaguchi, S.; Asa, R.; Takahashi, J.: Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* with or without  $\beta$ -1-4-galacto-oligosaccharides on ruminal fermentation, methane production and nitrogen utilization in sheep. *Animal Feed Science and Technology* (2007), 138(1), 75–88.
- Pilajun, R.; Wanapat, M.: Methane production and methanogen population in rumen liquor of swamp buffalo as influenced by coconut oil and mangosteen peel powder supplementation. *Journal of Animal and Veterinary Advances* (2011), 10(19), 2523–2527.
- Poungchompu, O.; Wanapat, M.; Wachirapakorn, Ch.; Wanapat, S.; Cherdthong, A.: Manipulation of ruminal fermentation and methane production by dietary saponins and tannins from mangosteen peel and soapberry fruit. *Archives of Animal Nutrition* (2009), 63(5), 389–400.
- Qiao, G.; Li, J.; Li, Y.: Effect of supplemental *Fructus Ligustri Lucidi* Extract on methane production and rumen fermentation in sheep. *Advanced Materials Research* (2012), 356–360(Pt. 3, Progress in Environmental Science and Engineering), 1454–1460; *Chem. Abstr.* (2012), 49256.
- Rejil, M. C.; Mohini, M.: Effect of fenugreek seed extracts on in-vitro digestibility of feed. *Indian Journal of Animal Nutrition* (2006), 23(4), 202–205.
- Rejil, M. C.; Mohini, M.: In vitro evaluation of feed supplemented with fenugreek seeds (Methi). *Indian Journal of Dairy Science* (2007), 60(2), 107–113.
- Rejil, M. C.; Mohini, Madhu; Singhal, K. K.: Methane emission as affected by dietary supplementation of raw and roasted fenugreek seeds in cattle. *Indian Journal of Animal Nutrition* (2008), 25(1), 37–42.
- Ricard, G.; McEwan, N. R.; Dutilh, B. E.; Jouany, J. P.; Macheboeuf, D.; Mitsumori, M.; McIntosh, F. M.; Michalowski, T.; Nagamine, T.; Nelson, N.; Newbold, Ch. J.; Nsabimana, E.; Takenaka, A.; Thomas, N. A.; Ushida, K.; Hackstein, J. H. P.; Huynen, M. A.: Horizontal gene transfer from Bacteria to rumen Ciliates indicates adaptation to their anaerobic, carbohydrates-rich environment. *BMC Genomics* (2006), 7, 22.
- Riede, S.; Boguhn, J.; Breves, G.: Studies on potential effects of fumaric acid on rumen microbial fermentation, methane production and microbial community. *Archives of Animal Nutrition* (2013), 67(5), 368–380.

- Santra, A.; Baberjee, A.; Das, S. K.; Chatterjee, A.: Effect of plants containing secondary metabolites on ruminal fermentation and methanogenesis in vitro. *Indian Journal of Animal Sciences* (2012), 82(2), 194–199.
- Sauvant, D.; Giger-Reverdin, S.; Serment, A.; Broudiscou, L.: Influences of diet and rumen fermentation on methane production by ruminants. *INRA Productions Animales* (2011), 24(5), 433–446.
- Shete, S. M.; Singh, B.; Sirohi, S. K.; Malaiyappan, V.: Effect of rutin on in vitro rumen microbial fermentation of feeds in buffalo rumen liquor. *Indian Journal of Dairy Science* (2009), 62(4), 286–291.
- Shinkai, T.; Enishi, O.; Mitsumori, M.; Higuchi, K.; Kobayashi, Y.; Takenaka, A.; Nagashima, K.; Mochizuki, M.; Kobayashi, Y.: Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *Journal of Dairy Science* (2012), 95(9), 5308–5316.
- Sirohi, S. K.; Chaudhary, P. P.; Goel, Navneet: Effect of inclusion of *Myristica fragrans* on methane production, rumen fermentation parameters and methanogens population. *Veterinary World* (2012), 5(6), 335–340.
- Sirohi, S. K.; Mehta, M.; Goel, N.; Pandey, P.: Effect of herbal plants oil addition in total mixed diets on anti-methanogenic activity, rumen fermentation and gas production kinetics in vitro. *Journal of Natural Product and Plant Resources* (2012), 2(1), 73–80.
- Sirohi, S. K.; Pandey, N.; Singh, B.; Puniya, A. K.: Rumen methanogens: a review. *Indian Journal of Microbiology* (2010), 50(3), 253–262.
- Solanki, S. K.: Unusual activity of the Sun during recent decades compared to the previous 11,000 years. *Nature* (2004), 431, 1084–1087.
- Solanki, S. K.; Krivova, N.: Can solar variability explain global warming since 1970? *Journal of Geophysical Research* (2003), 108, A5.
- Soliva, C. R.; Hindrichsen, I. K.; Gerig, C.; Meile, L.; Kreuzer, M.; Machmueller, A.: Effect of a stepwise increase of medium-chain fatty acid supply on ruminal methanogenesis in vitro. *Greenhouse Gases and Animal Agriculture, Proceedings of the International Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture* (Takahashi, J.; Young, B. A. eds), 1st, Obihiro, Japan, Nov. 7–11, 2001 (2002), 161–165; *Chem. Abstr.* (2003), 17047.
- Stumm, C. K.; Gijzen, H. J.; Vogels, G. D.: Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. *British Journal of Nutrition* (1982), 47, 95–99.
- Šurín, S.; Čuboňová, L.; Majerník, A. I.; Šmigáň, P.: Amiloride resistance in the methanoarcheon *Methanothermobacter thermoautotrophicus*: characterization of membrane-associated proteins. *Folia Microbiologica* (2006), 51, 313–316.
- Tan, H. Y.; Sieo, C. C.; Abdullah, N.; Liang, J. B.; Huang, X. D.; Ho, Y. W.: Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *Animal Feed Science and Technology* (2011), 169(3–4), 185–193.
- Tatsuoka, N.; Hara, K.; Mikuni, K.; Hara, K.; Hashimoto, H.; Itabashi, H.: Effects of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production in vitro. *Animal Science Journal* (2008), 79(1), 68–75.

- Tekippe, J. A.; Hristov, A. N.; Heyler, K. S.; Cassidy, T. W.; Zheljzkov, V. D.; Ferreira, J. F. S.; Karnati, S. K.; Varga, G. A.: Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* (2011), 94(10), 5065–5079.
- Tekippe, J. A.; Hristov, A. N.; Heyler, K. S.; Zheljzkov, V. D.; Ferreira, J. F. S.; Cantrell, C. L.; Varga, G. A.: Effects of plants and essential oils on ruminal in vitro batch culture methane production and fermentation. *Canadian Journal of Animal Science* (2012), 92(3), 395–408.
- Ungerfeld, E. M.; Kohn, R. A.; Wallace, R. J.; Newbold, C. J.: A meta-analysis of fumarate effects on methane production in ruminal batch cultures. *Journal of Animal Science* (2007), 85(10), 2556–2563.
- Van Hoek, A. H. A. M.; van Alen, T. A.; Vogel, G. D.; Hackstein, J. H. P.: Contribution by the methanogenic endosymbionts of anaerobic ciliates to methane production in Dutch freshwater sediments. *Acta Protozoologica* (2006), 45, 215–224.
- Van Hoek, A. H. A. M.; van Alen, T. A.; Sprakel, V. S. I.; Leunissen, J. A. M.; Brigge, T.; Vogel, G. D.; Hackstein, J. H. P.: Multiple acquisition of methanogenic archaeal symbionts by anaerobic ciliates. *Molecular Biology and Evolution* (2000), 17, 251–258.
- Verma, V.; Chaudhary, L. C.; Agarwal, N.; Bhar, R.; Kamra, D. N.: Effect of feeding mixture of garlic bulb and peppermint oil on methane emission, rumen fermentation and microbial profile in buffaloes. *Animal Nutrition and Feed Technology* (2012), 12(2), 157–164.
- Wallace, R. John: Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society* (2004), 63(4), 621–629.
- Wanapat, M.; Kongmun, P.; Pongchompu, O.; Cherdthong, A.; Khejornsart, P.; Pilajun, R.; Kaenpakdee, S.: Effects of plants containing secondary compounds and plant oils on rumen fermentation and ecology. *Tropical Animal Health and Production* (2012), 44(3), 399–405.
- Wang, J.-K.; Ye, J.-A.; Liu, J.-X.: Effects of tea saponins on rumen microbiota, rumen fermentation, methane production and growth performance—a review. *Tropical Animal Health and Production* (2012), 44(4), 697–706.
- Wang, X.-X.; Wang, K.; Wu, Ch.-H.; Wang, J.-K.; Liu, J.-X.; Ye, J.-A.: Effect of sapindoside on rumen fermentation and methane production in vitro. *Zhongguo Xumu Zazhi* (2012), 48(17), 55–58; *Chem. Abstr.* (2013), 663036.
- Watanabe, Y.; Suzuki, R.; Koike, S.; Nagashima, K.; Mochizuki, M.; Forster, R. J.; Kobayashi, Y.: In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. *Journal of Dairy Science* (2010), 93(11), 5258–5267.
- Williams, C. M.; Eun, J.-S.; MacAdam, J. W.; Young, A. J.; Fellner, V.; Min, B. R.: Effects of forage legumes containing condensed tannins on methane and ammonia production in continuous cultures of mixed ruminal microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* (2011), 166–167, 364–372.
- Wolin, M. J.; Miller, T. L.: Control of rumen methanogenesis by inhibiting the growth and activity of methanogens with hydroxymethylglutaryl-SCoA inhibitors. *International Congress Series* (2006), 1293(Greenhouse Gases and Animal Agriculture: An Update), 131–137; *Chem. Abstr.* (2008), 162539.

- Xu, M.; Rinker, M.; McLeod, K. R.; Harmon, D. L.: *Yucca schidigera* extract decreases in vitro methane production in a variety of forages and diets. *Animal Feed Science and Technology* (2010), 159(1–2), 18–26.
- Xu, X.; Zhang, L.: Nutritional role of tannin for ruminants: a review. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2011), 23(12), 2084–2089; *Chem. Abstr.* (2012), 854460.
- Zhang, Z.; Huang, J.; Tian, X.; Huang, H.; Zhang, G.; Wang, D.; Yin, Y.; Ding, J.: Different preparations of *Impatiens balsamina* affect rumen microbial methane production and fermentation characteristics in vitro. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2012), 24(3), 550–556; *Chem. Abstr.* (2012), 1748342.
- Zhou, Y.; Zhang, Y.; Lin, B.; Liu, J.: Microbial interactions in ruminal methanogenesis. *Dongwu Yingyang Xuebao* (2011), 23(4), 556–562; *Chem. Abstr.* (2011), 636304.
- Zmora, P.; Cieslak, A.; Jedrejek, D.; Stochmal, A.; Pers-Kamczyc, E.; Oleszek, W.; Nowak, A.; Szczechowiak, J.; Lechniak, D.; Szumacher-Strabel, M.: Preliminary in vitro study on the effect of xanthohumol on rumen methanogenesis. *Archives of Animal Nutrition* (2012), 66(1), 66–71.
- Zmora, P.; Cieslak, A.; Pers-Kamczyc, E.; Nowak, A.; Szczechowiak, J.; Szumacher-Strabel, M.: Effect of *Mentha piperita* L. on in vitro rumen methanogenesis and fermentation. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A: Animal Science* (2012), 62(1), 46–52.

## ABSTRAKT

OPLETAL, L., ŠIMERDA, M.: **Přírodní látky a jejich biologická aktivita 5. Sekundární metabolity rostlin ovlivňující methanogenezi a mikrobiální profil u přežvýkavců.** Expertní studie VVZ při MZe, VÚŽV Praha-Uhřetěves 2012, předpokládaný rozsah 46 s.

Některé sekundární metabolity rostlin (saponiny, třísloviny, siličné i nesiličné terpeny, fenolové kyseliny, flavonoidy) vykazují *in vivo* antimikrobiální aktivitu a mohou selektivně inhibovat určité skupiny mikroorganismů v mikrobiálním spektru bachoru a snižovat tak do určité míry zvýšenou tvorbu methanu, jehož obsah v emisních plynech je velmi nežádoucím prvkem destabilizujícím rovnováhu v životním prostředí. Práce pojednává o jednotlivých skupinách sekundárních metabolitů rostlin z hlediska jejich chemické struktury, a to nejen z pohledu účinku na mikrobiální agens, ale také z aspektu ovlivnění jiných mikroorganismů v trávicím ústrojí přežvýkavců, případně z hlediska nežádoucí interakce s látkami, které při trávení vznikají. Dotýká se také možných faktorů negativního organoleptického ovlivnění některých produktů (mléka). Zabývá se rovněž aplikovatelnou formou této skupin látek a s ní souvisejícími možnostmi biologické dostupnosti, případně ovlivnění účinku jiných, exogenně podávaných látek. Předkládá rovněž výběr perspektivních rostlin, resp. jejich metabolitů vhodných pro další studium, možnosti jejich velkoprodukčního získávání a praktického využití.

**Klíčová slova:** přežvýkavci – methanogeneze – sekundární metabolity rostlin – snížení produkce – interakce – krmivo – produkty trávení.

## ABSTRACT

OPLETAL, L., ŠIMERDA, M.: **Natural compounds and their biological activity 5. Secondary metabolites of plants which can affect the methanogenesis and microbial profile in ruminants.**

Expert study of the Scientific Committee for Animal Nutrition at the Ministry of Agriculture, Livestock Production Research Institute Prague-Uhřetěves 2013, 46pp.

Some of the secondary metabolites of plants (saponins, tannins, aromatic and non-aromatic terpenes, phenolic acids, flavonoids) show an antimicrobial activity. Selectively, they could inhibit some groups of microorganisms in the microbial spectrum of rumen. By this way, it can decrease the increased production of methane, whose content in gas emission is a very undesirable element, which can destabilise the environment. This study deals with each of the group of secondary metabolites in the aspect of their chemical structure – not only the effect on the microbial agents but also the aspect of affecting the other microorganisms which can be found in GIT of ruminants or adverse interactions with the substances which are produced during the digestion. There is a possibility of a negative organoleptic interference of some products (e.g. milk). It also deals with an applicable form of these substances and their bioavailability or whether they affect the effect of others, exogenously administered, substances. It also submits the selection of perspective plants, or their metabolites, suitable for another study, the possibility of their obtaining in the mass production and practical use.

**KEYWORDS:** ruminants – methanogenesis – secondary plants metabolites – production decreasing – interaction – feedstuff – products of digestion.