



A KLÍMAVÁLTOZÁS ÁLLAT- TENYÉSZTÉSI VONATKOZÁSAI

LÉGI JÁRMŰVEK, *IN VITRO* ÉS PROXYMÓDSZEREK: TÖVÁBBI ESZKÖZÖK
A SZARVASMARHÁK METÁNKIBOCSÁTÁSÁNAK VIZSGÁLATÁRA II.

**Szakértő
munkatársunk írása**
Állattenyésztési
Teljesítményvizsgáló Kft.

A Partnertájékoztató Hírlevelünk előző számában tárgyalt légi járműves mérések mellett az *in vitro* gáztermelési technika különféle változatai és a proxymódszerek is ígéretes irányokat képviselnek a szarvasmarhák metán- (CH_4 -) kibocsátásának meghatározásában. Ez utóbbiak rugalmasabb és költséghatékonyabb megoldásokat kínálnak a közvetlen megközelítésekhez képest.

Míg az *in vitro* technikák esetén laboratóriumi környezetben zajlik a kérődzők bélrendszerében végbemenő fermentációs folyamatok vizsgálata, addig a proxymódszerekkel közvetlen, helyettesítő paraméterek alapján becsülhető meg az enterális eredetű CH_4 -termelés mértéke. A rovat előző cikkének folytatásaként, jelen és következő írásunkban ezeket az eljárásokat mutatjuk be részletesen.

In vitro gáztermelési technika

Az 1980-as évek eleje óta alkalmazott *in vitro* gáztermelési technika (IVGTT) a takarmányok elemzésére és minősítésére szolgáló laboratóriumi emésztésvizsgálatokat egészíti ki. Ezáltal fontos információk gyűjthetők, mivel a bendőfermentáció során képződő gázok mennyisége közvetlenül jelzi a mikrobiális aktivitást, a takarmányok emészthetőségét és a lebontott tápanyagok mennyiségét, továbbá jól tükrözi a különböző, például az emissziócsökkentés céljából adott takarmánykiegészítők, adalékanyagok mikrobiális és bendőfermentációs hatásait. Az IVGTT segítségével pontosabban megállapítható a takarmányok metabolizálható energiatartalma, mint

más, közvetett *in vitro* mérésekkel. A takarmánylebonthatás kinetikája pedig már egy inkubációs periódus adataiból kiértékelhető, lehetővé téve az emésztés átlagos sebességének kiszámítását.

Az emésztésvizsgálatok különféle változatai az anaerob bendőkörülményeket (hőmérséklet, pH stb.), valamint a takarmányok mikrobiális fermentációját szimulálják kontrollált laboratóriumi környezetben. A lebontási folyamat különböző paraméterei ezáltal stabilan tarthatók, és az *in vivo* kísérletekhez képest könnyebben szabályozhatók. Bár az egyes vizsgálatípusok összetettségükben jelentősen eltérnek

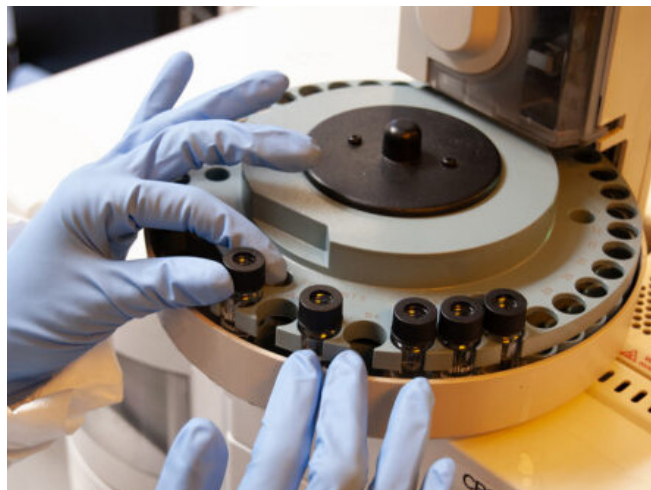


egymástól, legtöbbjük alapját Tilley és Terry (1963) stabil, jól reprodukálható, kétlépcsős technikája képezi. Eszerint az előkészített takarmánymintákat először anaerob körülmények között, 39 °C körüli hőmérsékleten, bendőinokulummal (fisztulával ellátott tehének mikrobákat tartalmazó bendőtartalmával) keverve inkubálják. Amennyiben a vizsgálat nem az állategyedek közötti különbségek feltárására irányul, a kezelések mindegyikéhez akár azonos bendőinokulum is használható, elkerülve ezzel az *in vivo* kísérletekben jellemző egyedi variabilitást. Az inkubációs idő néhány órától néhány napig terjedhet, amely alatt a jelentős pH-változások pufferanyagok (például műnyál) segítségével kerülhetők el, a bendőmikrobák számára pedig tápanyagokat (takarmányt) kell biztosítani. Az IVGTT-val a mikrobiális fermentáció során keletkezett különböző anyagcseretermékek, így a hidrogén, a szén-dioxid és a CH₄ mennyisége is megbízhatóan detektálható. A termelt CH₄ mennyiségének meghatározását korábban főleg Menke és mtsai.-nak (1979) kézi fecskendővel végzett eljárásával végezték, mára azonban számos egyéb technológia is rendelkezésre áll. Egyre elterjedtebbek például a vezeték nélküli gáznyomásmérő rendszerek, amelyek esetén a mérésekre a felhasználó által előre beállított időközönként kerül sor, a számítógépekkel való adatkapcsolatot pedig valós idejű rádiófrekvenciás interfész biztosítja. A fermentáció során keletkező CH₄ koncentrációjának pontos kimutatására többnyire gázkromatográfiát használnak.



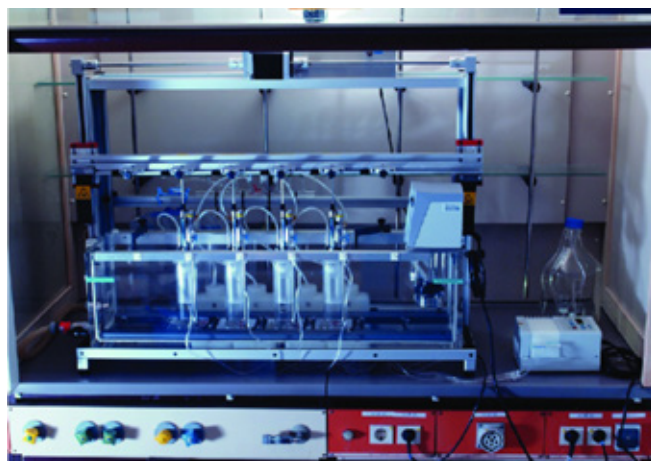
Az IVGTT-rendszerek többsége az inkubációs idő teljes tartama alatt, folyamatosan végez méréseket. Az optimális inkubációs időtartamra vonatkozóan azonban a szakirodalom nem nyújt egyértelmű útmutatást. Mindenesetre azok az eredmények, amelyek a takarmányok bendőben való átlagos tartózkodási idejénél hosszabb inkubációs periódusok

alatt születnek, inkább a takarmányok potenciális CH₄-képző képességét tükrözik, mintsem a szarvasmarhák tényleges CH₄-termelését. Az adott körülményektől függően akár több száz emésztésszimuláció is végezhető egyszerre, lehetővé téve ezáltal a kezelések közötti statisztikailag szignifikáns különbségek feltárását.



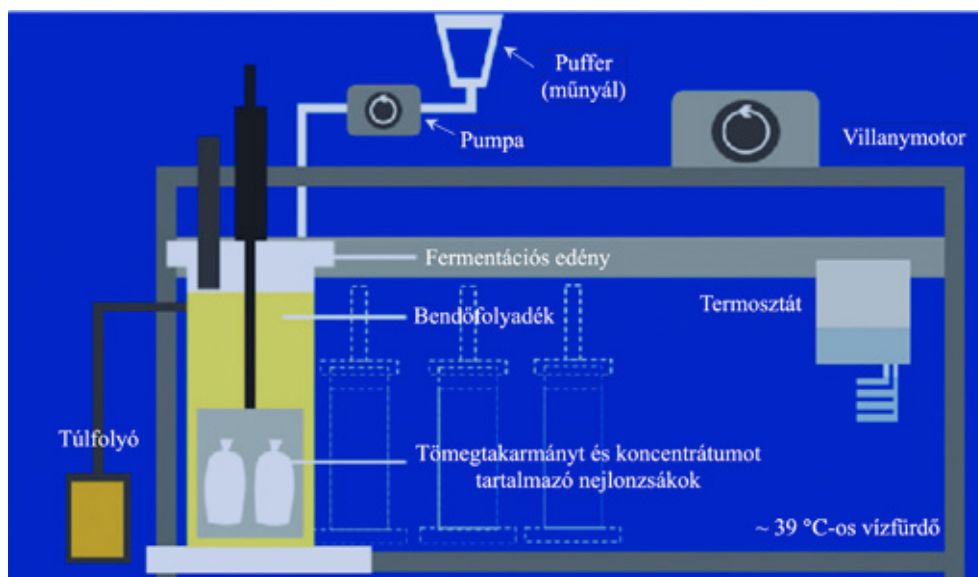
Az 1970-es években Czerkawski, a brit Hannah Kutatóintézet akkori munkatársa kifejlesztett egy mesterséges emésztőrendszert (műbendőt), az ún. RUSITEC-et (Rumen Simulation Technique – bendőszimulációs technika), amelyben megfelelő körülmények teremthetők a mikrobapopuláció hosszú távú fenntartására. A készülék részét képező zsákokba napi rendszerességgel töltenek be kisebb adagokat a szarvasmarhák takarmányából, ami lehetővé teszi a fermentációs folyamatok monitorozását és a keletkező végtermékek, többek között a CH₄ mennyiségének mérését. E szabványosított módszer ugyanakkor nem alkalmas például a lassú bendőpasszázs, az abszorpciós folyamatok vagy a protozoák CH₄-termelésben betöltött szerepének modellezésére (Birk és mtsai., 2018).

1. ábra: Czerkawski RUSITEC-berendezése



Forrás: Birk és mtsai., 2018.





Forrás: Birk és mtsai., 2018.

Az IVGTT összességében hatékony, költségkímélő és praktikus módszer, amely jó kiegészítője, sőt egyes esetekben alternatívája lehet a szarvasmarhák CH_4 -kibocsátásának közvetlen mérésére szolgáló, gyakran bonyolult és drága technikáknak. Segítségével gyorsan meghatározható a különböző takarmányfeleségek CH_4 -termelési potenciálja, valamint a takarmánykiegészítők metanogenezisre gyakorolt hatása, ami megkönnyíti a takarmányadagok optimális összeállítását még az *in vivo* kísérletek megkezdése előtt.

Emellett ez a technika leegyszerűsíti azoknak az emissziócsökkentő anyagoknak a kiválasztását is, amelyek nem/legkevésbé befolyásolják kedvezőtlenül a bendő mikrobiomját vagy a takarmányok emészthetőségét.

Bár az IVGTT hatékonyan modellezi a bendőben zajló fermentációs folyamatokat, alkalmazásával csupán a képződő CH_4 koncentrációja mérhető, ami nem nyújt közvetlen információt a szarvasmarhák tényleges CH_4 -kibocsátásáról. Ráadásul a mért CH_4 -koncentrációs adatok csak a „bendőkörnyezetet adó” állatokra vonatkoznak, ezért még az utókalkulációjukkal korrigált eredmények is gyakran eltérnek az egyedek légzőkamrákkal vagy kén-hexafluoridos (SF_6 -os) nyomjelző technikával mért CH_4 -termelésétől. Az IVGTT-adatok értelmezését tovább nehezíti, hogy ezzel a technikával nem szimulálható a bendő mikroorganizmusainak természetes körülmények közötti, hosszú távú adaptációja a takarmányokhoz. Emiatt a laboratóriumi eredmények megerősítésére *in vivo* kísérleteket kell végezni.

Proxymódszerek

Mint már korábban említettük, a közvetlen mérési eljárások (légzőkamrák, SF_6 -os nyomjelző technika, alagútrendszer stb.) viszonylag pontos eredményeket szolgáltatnak, ám alkalmazásuk gyakran bonyolult és költséges, különösen akkor, ha nagyszámú szarvasmarha egyedi CH_4 -termelését kell rövid idő alatt (például genetikai szelekció céljából) felmérni. E kihívásokra kínálhatnak megoldást a proxy- (helyettesítő) módszerek, amelyek általában nem zavarják az állatokat, és nem igénylik azok előzetes betanítását (eszközökhöz való hozzászoktatását) sem. Fontos ugyanakkor megjegyezni, hogy a rövid távú közvetett mérések önmagukban nem garantálják a teljes megbízhatóságot, és az eredményeik eltérhetnek a légzőkamrás standard vizsgálatokétól. Ezért esetükben az adatgyűjtést többször vagy kellően hosszú ideig szükséges végezni, majd az adatokat

extrapolálni kell a napi CH_4 -termelés becsléséhez. Az ilyen típusú előrejelzések mellett többféle módszer kombinálásával is pontosíthatók.

A proxymérések terén számos alternatíva áll rendelkezésre, kezdve az olyan viszonylag egyszerű és költséghatékony technikáktól, mint a tej zsírtartalmának és a tejsír zsírsavösszetételének elemzése, a bonyolultabb eljárásokig (például a vérmintavétel, a bendő metabolitjainak vizsgálatáig vagy a mikrobiom-profilalkotásig). Ezek pontossága és alkalmazhatósága azonban változó, és jelentősen függ a telepi körülményektől. Egy proxy akkor tekinthető ideálisnak, ha erős korrelációt mutat a CH_4 -kibocsátással, és egyszerűen, nagy léptékben, valamint megbízhatóan mérhető. Mindezek tükrében, a következőkben egy rövid válogatást mutatunk be a jelenleg rendelkezésre álló módszerek közül.



A tejsír zsírsavösszetételének vizsgálata

Számos rövid távú kutatás (például Vlaeminck és Fievez, 2005; Chilliard és mtsai., 2009; Dijkstra és mtsai., 2010; Bougouin és mtsai., 2018) számolt be arról, hogy a tej zsírtartalmának és a tejsír zsírsavösszetételének alakulása értékes információval szolgálhat a szarvasmarhák CH_4 -termeléséről, mivel e tényezők mindegyikét jelentős mértékben befolyásolják az állatok bendőjében zajló mikrobiális takarmányemésztési folyamatok.

A takarmányban levő szénhidrátok, amellett, hogy létfontosságú energiaforrásként szolgálnak a szarvasmarhák számára, a tejsír- és tejcukorszintézisben is fontos szerepet játszanak. Lebontásukkor illó zsírsavak (volatile fatty acids, VFA-k, így például ecetsav, propionsav, vajsav, izo-vajsav, valeriánsav stb.), szén-dioxid, CH_4 , hidrogén stb. termelődik. (A három fő VFA, tehát az ecetsav, a propionsav és a vajsav közül a legnagyobb hányadot az ecetsav, míg a legkisebbet a vajsav teszi ki. A VFA-kra és az egyéb szerves savakra felszívódás után a savmaradékionjukkal – például az ecetsavra acetátként, a vajsavra butirátként, a propionsavra pedig propionátként – hivatkozik a szakirodalom, ezért

a következőkben mi is ezeket az anion-elnevezéseket használjuk).

Ahogy e rovat egy korábbi cikkében már szerepelt, a tejsírszintézisben döntő szerepet betöltő acetát és butirát (β -hidroxibutirát) képződésekor hidrogén szabadul fel, amely többek között a metanogenezisben és a propionát termelésében hasznosul. Így az utóbbi folyamat csökkenti azt a hidrogénmennyiséget, amely a metanogenezis számára rendelkezésre áll. Fontos kiemelni, hogy a bendő hámsejtjeiben a butirát egy része β -hidroxibutiráttá alakul, amely a zsírsavképzés mellett a bendőfal egészségének fenntartásában is kulcsfontosságú szereppel bír. A propionát pedig, mint a glükoneogenezis egyik fő kiindulási anyaga, központi szerepet játszik a glükóz szintézisében, mely vegyület nélkülözhetetlen a tejcukor és a tejsír előállításához.

A tejsír a következő forrásokból származik: 1. a laktáló tügymirigyben *de novo* szintetizálódó zsírsavakból, melyek fő prekursorai az acetát és a β -hidroxibutirát; 2. a takarmányból (trigliceridek, glikolipidek, foszfolipidek, szabad zsírsavak); 3. mikrobiális forrásból; valamint 4. az állatok zsírraktáraiból.

3. ábra: A tejsírsavszintézis és a CH_4 -termelés összefüggéseinek vázlata



Forrás: Saját összeállítás.

A szarvasmarhák CH_4 -termelésének becslésére szolgáló innovatív megközelítések bemutatását Partnertájékoztató Hírlevelünk következő számában folytatjuk. A cikk befejező részében először a tejsír zsírsavösszetételének elemzését fogjuk tárgyalni, ismertetve néhány, a témakörben született tudományos eredményt. Majd kitérünk a CH_4 -koncentráció vérből

történő kimutatásának módszerére és az infravörös termográfia alkalmazásának lehetőségeire, végül pedig a CH_4 -termelés proxyjaiként használt bendőbeli redoxpotenciál és pH intraruminális telemetriás mérésebe nyújtunk betekintést.

A felhasznált források listáját a cikk terjedelmi korlátai miatt nem közöljük, az a szerkesztőségben érhető el.

