

MODULACIJOM METABOLIZMA KRAVA DO EKOLOŠKI PRIHVATLJIVE PROIZVODNJE NA GOVEDARSKIM FARMAMA

*Danijela Kirovski, Sreten Nedić, Ljubomir Jovanović, Radiša Prodanović,
Milica Stojković, Dušan Bošnjaković, Ivan Vujanac*

Kratak sadržaj

Poljoprivredni sektor predstavlja najznačajniji pojedinačni antropogeni izvor metana sa farmama visokomlečnih krava koje daju najveći doprinos u emisiji metana. Metan je drugi po značaju gas sa efektom staklene bašte, odmah posle ugljen-dioksida, koji se fiziološki stvara u buragu preživara. Naime, burag predstavlja sredinu koju nastanjuje zajednica mikroorganizama (mikrobiom), koja uključuje različite vrste anaerobnih bakterija, arheja, protozoa, gljivica i faga. Glavna uloga ovih mikroorganizama je razlaganje sastojaka biljne hrane koji ne mogu biti razloženi enzimskim sistemom domaćina, što rezultira oslobađanjem krajnjih proizvoda fermentacije – isparljivih masnih kiselina. Ovi proizvodi fermentacije se, nakon resorpcije iz digestivnog trakta, koriste za sintezu kompleksnih jedinjenja u različitim tkivima (mišićima, mlečnoj žlezdi i drugim), uključujući proteine, masti i druga jedinjenja, koji proizvode animalnog porekla čine nutritivno vrednim za ljude. Međutim, procesi fermentacije u buragu su praćeni i oslobađanjem ugljen-dioksida i vodonika, koje metanogene arheje koriste za sintezu metana. Njegovo prekomerno oslobađanje u spoljašnju sredinu doprinosi efektu staklene bašte i globalnom zagrevanju. Dodatno, sinteza metana u buragu predstavlja metabolički put kojim se gubi 2 – 12 procenata energije hrane. Zbog toga se interes za smanjenje njegove emisije ne nalazi samo u zaštiti životne sredine, već i u potencijalnom povećanju produktivnosti životinja, koja nosi ekonomsku korist za farmere koji su jedna od ključnih karika u planiranju mera za smanjenje emisije metana sa govedarskih farmi. Različiti nutritivni dodaci mogu modulirati metaboličke procese i time doprineti smanjenju emisije metana od strane mlečnih krava. U tom pogledu, najviše se izučavaju tanini i drugi biljni ekstrakti, kao što su uljani ekstrakt belog luka i ekstrakti različitih morskih algi, uključujući crvene i braon morske alge.

Ključne reči: enterična fermentacija, metan, metanogene arheje, modulacija metabolizma, nutritivni dodaci

¹Dr sci. vet. med. Danijela Kirovski, redovni profesor; dr sci. vet. med. Sreten Nedić, asistent sa doktoratom; dr sci. vet. med. Ljubomir Jovanović, docent; dr sci. vet. med. Radiša Prodanović, docent; dr sci. vet. med. Milica Stojković, docent; dr vet. Dušan Bošnjaković, asistent; dr sci. vet. med. Ivan Vujanac, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, R. Srbija

*e-mail adresa autora za korespondenciju: dani@vet.bg.ac.rs

UVOD

Metan (CH_4) pripada grupi gasova sa efektom staklene bašte (engl. *greenhouse gasses* – GHG), a koji su prisutni u atmosferi. To su gasovi čiji molekuli zadržavaju toplotu odbijenu sa Zemljine površine, a zatim je opet preusmeravaju nazad ka Zemlji. Zahvaljujući ovom fenomenu, klima na Zemlji je pogodna za život. Međutim, čovek je svojim aktivnostima (antropogeni efekat) doveo do povećanog oslobađanja GHG, odnosno povećanog zadržavanja toplote u atmosferi, što je dovelo do globalnog zagrevanja planete. Pored CH_4 , koji sa 15 procenata doprinosi ukupnoj emisiji gasova, u GHG spadaju i ugljen dioksid (CO_2), 55 procenata, azot suboksid (N_2O), 6 procenata, kao i hlorofluorougļjovodonik (HFC) i perfluorougļjenik (PFC), čiji je zajednički doprinos oko 25 procenata (Jose i sar., 2016). Iako je CH_4 drugi po zastupljenosti GHG u atmosferi, odmah posle CO_2 , njegov potencijal zagrevanja planete je značajno veći nego potencijal koji ima CO_2 . Naime, s obzirom da svi GHG nemaju istu sposobnost da apsorbuju toplotu u atmosferi, uveden je pojam globalnog potencijala zagrevanja (engl. *Global Warming Potential* – GWP), a koji predstavlja odnos toplote apsorbovane od strane jedinične mase nekog gasa u odnosu na toplotu apsorbovanu od strane jedinične mase CO_2 u toku određenog perioda. GWP se izražava kao CO_2 ekvivalent ($\text{CO}_2\text{-eq}$) i prikazuje za period od 100 (GWP_{100}) ili 20 godina (GWP_{20}). Tako je GWP_{100} za CH_4 28, a to znači da jedan molekul CH_4 ima isti efekat GHG kao 28 molekula CO_2 , računato za period od 100 godina, dok je GWP_{20} za CH_4 84 (Myhre i sar., 2013).

Metan se, kada su u pitanju prirodni izvori, najviše emituje sa močvarnih područja, a kada su u pitanju antropogeni izvori, sa stočarskih farmi. U odnosu na druge grane stočarstva, govedarska proizvodnja najviše doprinosi efektu staklene bašte. Unutar govedarske proizvodnje, najveći procenat GHG se proizvodi na farmama visokomlečnih krava. Aktivnošću buraga emituje se CH_4 u procesu koji se naziva *enterična fermentacija*, a koja sa 90 do 95 procenata doprinosi emisiji CH_4 . Ovaj enterični CH_4 se oslobađa podrigivanjem u slučaju da se stvara u buragu (gde se odigrava preko 95 procenata enterične fermentacije), odnosno flatulacijom u slučaju kada se stvara fermentacijom u debelom crevu (gde se odigrava manje od 5 procenata enterične fermentacije). Preostalih 5 do 10 procenata CH_4 koji potiču od životinje se oslobađa iz stajnjaka tokom njegove obrade ili skladištenja. Na osnovu očekivanih promena u stočarskoj proizvodnji, ali i navikama potrošača, očekuje se da će emisija CH_4 enteričnom fermentacijom, u poređenju sa 1995. godinom, do 2055. godine porasti za 70 procenata (Reisinger i sar., 2021).

METABOLIČKI PUTEVI UKLJUČENI U PROIZVODNJU METANA

Enterična fermentacija je dominantni izvor CH_4 u organizmu krava i ona podrazumeva biohemijske procese u digestivnom traktu preživara u kojima dolazi do proizvodnje CH_4 . Enterična fermentacija se najvećem delom odigrava u buragu (oko 95 procenata) pri čemu se tada stvoreni CH_4 odstranjuje podrigivanjem.

U značajno manjoj meri (oko 5 procenata) CH_4 se stvara u debelom crevu odakle se odstranjuje flatulacijom (Reisinger i sar., 2021).

Burag je kompleksan ekosistem koji nastanjuju brojne vrste mikroorganizama u koje spadaju pretežno anaerobne bakterije (uz neznatno učešće fakultativno anaerobnih i aerobnih bakterija), protozoe, gljivice, metanogene arheje i fagi. Ovi mikroorganizmi razgrađuju biljni materijal koji se ne može razgraditi enzimskim sistemom domaćina, obezbeđujući energiju za domaćina, ali i polazna jedinjenja za sintezu organskih molekula koji ulaze u sastav mišića i mleka, nutritivno vrednih proizvoda u ishrani ljudi. U biljnoj hrani preživara zastupljeni su voda i suva materija, koju čine neorganski elementi i organski sastojci (ugljeni hidrati, masti, azotne i različite druge materije kao što su lignin, organske kiseline, materije koje doprinose boji, ukusu i mirisu, toksini ili inhibitori različitih tipova, biljni i životinjski hormoni). Ugljeni hidrati čine do 75 procenata suve materije biljaka i predstavljaju osnovni izvor energije za preživare. Oni su takođe glavni prekursor u sintezi laktoze mleka ali i sinteze masti. Ugljeni hidrati, prisutni u biljkama, se dele na strukturne (celuloza, hemiceluloza i pektin) i nestrukturne (rastvorljivi šećeri, skrob i fruktani). Lignin, iako ne pripada ugljenim hidratima, je strukturno povezan sa njima i enzimski je nerazgradiva komponenta biljaka. Osim ugljenih hidrata, značajan sastojak biljne hrane su i azotne materije, koje se dele na proteinske i neproteinske.

Zastupljenost pojedinih mikroorganizama, a pre svega bakterija u buragu, zavisi pored ostalog, od vrste hrane koju jedinka unosi. Bakterije razlažu složene ugljene hidrate do krajnjih proizvoda fermentacije, pri čemu primarne bakterije razlažu složene ugljene hidrate do prostih molekula, koje zatim preuzimaju sekundarne bakterije i konvertuju ih do krajnjih proizvoda fermentacije. Ukoliko se preživari hrane pretežno kabastom hranom, prisutne su pre svega celulolitičke bakterijske vrste iz rodova *Fibrobacter*, *Bacteroides* i *Ruminococcus* koje razlažu celulozu do celobioze i dalje do glukoze ili aktivnošću fosforilaze do glukozo-1-fosfata. Dodatno, bakterijske vrste *Butyrivibrio fibrisolvens* i *Bacteroides ruminicolanos* pripadaju grupi hemicelulolitičkih bakterija koje razlažu hemicelulozu do pentoza. Ukoliko je ishrana zasnovana na koncentratima, u buragu dominiraju amilolitičke bakterijske vrste iz rodova *Prevotella* i *Succinivibrio*, koje primarno razlažu skrob do maltoze i izomaltoze a zatim do glukoze ili glukozo-1-fosfata. *Streptococcus bovis* je amilolitička bakterija koja je značajno zastupljena u buragu krava kod kojih se koristi koncentrovana hrana.

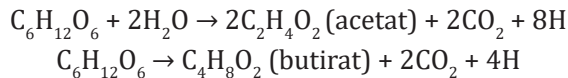
Prosti ugljeni hidrati, koji se stvaraju u prvoj fazi varenja hrane u buragu se retko detektuju u tečnosti buraga zbog toga što se odmah preuzimaju i metabolišu od strane sekundarnih mikroorganizama.

Glavni međuproizvod metabolizma u buragu je piruvat. On se stvara iz heksoza u Embden-Meyerhof-Parnasov-om putu. U ovom metaboličkom putu se glukoza fosforiliše a zatim pretvara u dva trioza - fosfata koji se zatim kovertuju u dva piruvata. Pri tome se oslobađaju dva molekula ATP-a i redukuju dva NAD^+ u dva NADH. Pored heksoza, u buragu se razlaganjem pentoza, koje primarno

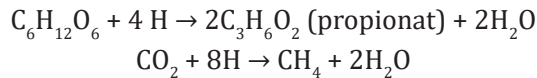
potiču iz hemiceluloze, stvaraju prvo dva heksozo - fosfata i jedan trioza - fosfat, a zatim se u Embden-Meyerhof-Parnasov-om metaboličkom putu stvara piruvat. Računato na količinu ugljenikovih atoma, metabolizam heksoza i pentoza obezbeđuje istu količinu ATP-a i NADH. Alternativno, pentoze se mogu metabolisati do piruvata uz proizvodnju acetata, oslobađajući dva molekula ATP-a.

Počevši od piruvata, metabolizam ugljenih hidrata u buragu divergira. Iz njih se stvaraju krajnji fermentacioni proizvodi metabolizma a to su isparljive masne kiseline, vodonik i ugljen dioksid. Od isparljivih masnih kiselina najviše su zastupljene propionska, sirćetna i buterna kiselina, pri čemu se propionska kiselina može formirati iz piruvata kroz više različitih metaboličkih puteva. Metabolički put preko laktata i akrilata dominira kada je ishrana preživara bazirana na koncentratima a put preko sukcinata je uključen kada je ishrana bazirana na kabastim hranivima. Pri ishrani koncentratom, laktat proizveden u prvom metaboličkom putu može da se nakuplja u buragu i dovede do nastanka acidoze.

Da bi se u buragu održali metabolički putevi pretvaranja heksoza u piruvat, neophodno je da se stvoreni NADH ponovo oksidiše u NAD^+ . Ova reakcija oksidacije se ostvaruje oslobađanjem H_2 . Glavni proizvođači H_2 su mikroorganizmi koji proizvode sirćetnu, ali i buternu kiselinu u fermentacionom putu:



Ako se H_2 akumulira unutar buraga, oksidacija NADH može biti termodinamički neizvodljiva. Zbog toga su neophodne reakcije uklanjanja H_2 , kao što je stvaranje propionata ali i metana:



Iako je H_2 jedan od krajnjih proizvoda fermentacije od strane protozoa, kvasca i bakterija, on se fiziološki ne nakuplja u buragu, već se koristi od strane drugih bakterija, pre svega metanogena. Molarni udeo isparljivih masnih kiselina utiče na količinu oslobođenog metana što su definisali Moss i saradnici (2000): $\text{CH}_4 = 0,45 \text{ C}_2 \text{ (acetat)} - 0,275 \text{ C}_3 \text{ (propionat)} + 0,40 \text{ C}_4 \text{ (butirat)}$. Iz formule je jasno da proizvodnja acetata i butirata dovodi do produkcije metana, dok je formiranje propionata kompetitivni put u uklanjanju H_2 iz buraga (Lyu i sar., 2018).

METANOGENI – MIKROORGANIZMI UKLJUČENI U PROIZVODNJU METANA U BURAGU

Metanogeni predstavljaju jedinstvenu grupu mikroorganizama za koju je, na osnovu analize nukleotidne sekvence za 16S ribozomalnu RNK, utvrđeno da su se, u pogledu evolutivnog razvoja, rano odvojili od svih drugih, do sada proučavanih, oblika života. To je rezultiralo njihovim svrstavanjem u poseban domen – *Archea* (ranije *Archeobacteria*), koji pripada carstvu *Euryarcheota*. Ovi mikro-

organizmi imaju ćelijski omotač specifične strukture u kome se ne nalazi mura-minska kiselina, već izoprenoidi koji su etarski vezani za glicerol ili druge ugljene hidrate u omotaču. Upravo ova specifičnost metanogenih arheja je iskorišćena za definisanje hemijskih biomarkera, poput dialkil glicerol etera (DAGE) i glicerol dialkil glicerol tetraetera (GDGT) koji se, kao strukturni elementi ćelijskog zida, mogu koristiti za kvantifikaciju metanogena u medijumima koji se teško pripremaju ili su nepodesni za qPCR (engl. *quantitative Polymerase Chain Reaction*) analize. Dodatno, podatak da su isključivo kod metanogenih arheja prisutna tri koenzima, koji uključuju *koenzim F₄₂₀*, *faktor B* i *metil koenzim M*, na poseban način ističe ovu grupu mikroorganizama u odnosu na sve ostale i upravo su ovi koenzimi zaslužni za njihovu sposobnost za sintezu metana (metanogenezu), koja im obezbeđuje energiju za rast. Poznato je da metanogene arheje mogu koristiti veći broj supstrata u procesu metanogeneze, uključujući H₂, CO₂, formiat, metanol, metilamin, dimetil sulfid i određene alkohole, pri čemu korišćenje H₂, CO₂ i formiata predstavlja deo tzv. *hidrogenotrofnog* puta metanogeneze, dok je korišćenje preostalih supstrata deo *metilotrofnog* puta metanogeneze (Tapio i sar., 2017). Dodatno, Liu i Whitman (2008) su detaljno opisali treći, *acetiklastični* put metanogeneze, koji podrazumeva sintezu metana direktno od acetata, ali je ovaj put metanogeneze ograničen samo na članove reda *Methanosarcinales*.

Diverzitet metanogenih arheja u buragu preživara je ograničen na četiri reda, koji obuhvataju više od 32 rodova i 112 vrsta mikroorganizama, koji su u buragu najviše rasprostranjeni u tečnoj frakciji sadržaja, mada se nalaze i vezani za čestice biljnog materijala, površinu protozoa ili površinu epitela buraga, kao i u endosimbiotskom odnosu sa protozoama (Tapio i sar., 2017). Pri tome se, najveći broj metanogenih arheja u buragu (92,3 procenta) može svrstati u jedan od tri roda/grupe, uključujući *Methanobrevibacter* spp. (61,6 procenta), *Methanomicrobium* spp. (14,9 procenata) i tzv. RCC (15,8 procenata; engl. *Rumen Cluster C*) grupu nekultivišućih metanogenih arheja (Janssen i Kirs, 2008). Pri tome je interesantno istaći da su vrste unutar *Methanobrevibacter* spp., glavnog roda metanogenih arheja u buragu, raspoređene u dve grupe: *Methanobrevibacter* SGMT (sa vrstama *Mbb. smithii*, *Mbb. gottschalki*, *Mbb. millerae* i *Mbb. thaueri*) i *Methanobrevibacter* RO (sa vrstama *Mbb. ruminantium* i *Mbb. olleyae*), koje se razlikuju u kapacitetu za metanogenezu. Navedene razlike se objašnjavaju prisustvom dva izoenzimska oblika *metil koenzim M reduktaze* (*McrI* i *McrII*) kod SGMT grupe, sa jedne strane, i prisustvom samo jednog izoenzimskog oblika ovog enzima (*McrII*) kod RO grupe, sa druge strane. Ovo uslovljava i manji kapacitet RO grupe za iskorišćavanje H⁺ u procesu metanogeneze (Danielsson i sar., 2012). Uzimajući u obzir ove podatke, može se izvesti zaključak da istraživanja mikrobioma buraga, u svetlu emisije metana, ne bi trebalo svoditi na kvantifikaciju metanogenih arheja kao čitave populacije, već da bi trebalo ići u kvantifikaciju pojedinačnih rodova, grupa ili vrsta metanogenih arheja. Na tom nivou se najpre mogu naći odgovori na pitanja vezana za nivo emisije metana od strane krava.

PREDIKCIJA EMISIJE METANA U BURAGU

U cilju adekvantne kontrole emisije CH_4 enteričnom fermentacijom, potrebno je utvrditi pouzdan i lako primenljiv model za predikciju emisije metana. Do sada je nekoliko studija dovelo u vezu pojedinačne masne kiseline mleka sa emisijom CH_4 od strane mlečnih krava (Mohammed i sar., 2011; van Lingen i sar., 2014; Rico i sar., 2016), pri čemu se naučna zasnovanost ovih studija u potpunosti oslanja na specifičnosti metabolizma preživara. Naime, poznato je da zasićene, kratkolančane i srednjelančane masne kiseline (engl. *Short and Medium-Chain Fatty Acids* – SMCFA) mleka nastaju skoro isključivo *de novo* sintezom u mlečnoj žlezdi iz acetata i β -hidroksibutirata, koji potiču iz buraga (Bernard i sar., 2008). Ukoliko se tome doda podatak da oslobađanje acetata i butirata u buragu pozitivno korelira sa produkcijom i emisijom CH_4 , moguće je pretpostaviti i pozitivnu korelaciju između emisije CH_4 i sadržaja zasićenih, kratkolančanih i dugolančanih masnih kiselina u mleku krava (Ellis i sar., 2008; Chilliard i sar., 2009). Sa druge strane, masne kiseline sa neparnim brojem C-atoma i masne kiseline razgranatog lanca (engl. *Odd- and Branched-Chain Fatty Acids*; OBCFA) u mleku krava se takođe mogu koristiti za predikciju emisije CH_4 (Fievez i sar., 2012). U tom pogledu, poznato je da propionat, koji nastaje u buragu i predstavlja supstrat za *de novo* sintezu C15:0 i C17:0 masnih kiselina u mlečnoj žlezdi, negativno korelira sa emisijom metana i zbog toga je bilo opravdano postaviti hipotezu da je odnos između zastupljenosti C15:0 i C17:0 masnih kiselina u mleku i emisije CH_4 takođe negativan (Ellis i sar., 2008). Slično tome, van Lingen i sar. (2014) ističu da veći sadržaj nezasićenih masnih kiselina (engl. *Unsaturated Fatty Acids* – UFA) u ishrani negativno korelira sa emisijom CH_4 , što se objašnjava oslobađanjem metaboličkih proizvoda koji nastaju biohidrogenizacijom nezasićenih masnih kiselina u buragu, uključujući različite C18:1 i C18:2 izomere (Patra, 2013). Sledstveno tome, uzimajući u obzir da pojedine nezasićene masne kiseline mleka direktno potiču iz nezasićenih masnih kiselina hrane, ali i proizvoda koji nastaju njihovom biohidrogenizacijom u buragu, može se pretpostaviti negativna korelacija između sadržaja dugolančanih nezasićenih masnih kiselina u mleku i emisije CH_4 od strane mlečnih krava (van Lingen i sar., 2014).

Interesantno je navesti i da se primenom nutritivnih strategija, koje podrazumevaju formulisanje obroka sa niskim sadržajem vlaknastih i visokim sadržajem koncentrovanih hraniva, može očekivati povećano oslobađanje proizvoda biohidrogenizacije masnih kiselina što je, kao što je prethodno istaknuto, u negativnoj korelaciji sa emisijom CH_4 . Primena pomenutih nutritivnih strategija dovodi do snižavanja pH u buragu, što rezultira i promenama mikrobioma buraga. Ove promene se ogledaju u potiskivanju populacije mikroorganizama koji učestvuju u procesima biohidrogenizacije, zbog čega ovi procesi postaju nepotpuni i umesto da rezultiraju pretvaranjem nezasićenih u zasićene masne kiseline, prekidaju se na nivou nezasićenih *cis* ili *trans* izomera, kao što su C18:1 *cis*-11, i C18:1 *trans*-11 i mnogi drugi (Bauman i Griinari, 2003). Pri tome, stvaranje ovih izomera nezasićenih masnih kiselina negativno korelira sa emisijom metana, a

njihovo prisustvo u mleku opravdava njihovu upotrebu za predikciju emisije CH₄ kod mlečnih krava. Zanimljivo je napomenuti i da su prethodno pomenuti procesi, biohidrogenizacije masnih kiselina, u kompeticiji sa procesom metanogeneze, zbog toga što troše 3 procenta molekuskog vodonika (H₂) koji se oslobodi u buragu u procesima fermentacije (Bougouin i sar., 2019). Na kraju, neophodno je istaći i da snižavanje pH u buragu, kao rezultat primene nutritivnih strategija, usvoljava smanjenu aktivnost metanogena i smanjenu fermentaciju vlakana, dok se fermentacija skroba ne smanjuje. Time se favorizuje proizvodnja propionata, koju prati i smanjena raspoloživost H₂ za proizvodnju CH₄.

SUPLEMENTI U HRANI KAO POTENCIJALNI MODULATORI METABOLIZMA

Posednjih godina se sve više izučavaju suplemenati u ishrani krava koji bi omogućili jedinki da prevaziđe kritične periode proizvodno-reproduktivnog ciklusa, uz održavanje visoke proizvodnje a bez narušavanja svog zdravlja i dobrobiti. Uzimajući u obzir činjenicu da je jetra organ koji je najviše opterećen u metaboličkom prestrojavanju jedinke (Kirovski i Sladojević, 2017; Podpečan i sar., 2020), često se kod visokomlečnih krava u periodu tranzicije iz stanja graviditeta u stanje laktacije koriste suplementi koji štite jetru i održavaju jediku u energetskom balansu, kao što su propilen-glikol i holin (Ahmadzadeh-Gavahan i sar., 2021). Za prevenciju hipokalcemije kojoj su visokoproizvodne jedinke izložene na početku laktacije, zbog gubitka kalcijuma mlekom, koriste se zakiseljivači morkraće. Međutim, upotreba ovih suplemenata je često ekonomski neopravdana za farmera, pa se danas istraživanja vezana za upotrebu suplemenata u ishrani krava uglavnom usmeravaju na one koji potiču iz prirodnih izvora. To su, pre svega, tanini (Prodanović i sar., 2021), uljani ekstrakt belog luka (Meale i sar., 2014) i palmino ulje (Kirovski i sar., 2015) kao derivati biljaka, zatim derivati algi (Machado i sar., 2014) i mikroelementi inkorporisani u ćelije kvasaca kao što je hrom (Jovanović i sar., 2017; Pantelić i sar., 2018). Upravo je dokazano da pojedini od ovih suplemenata smanjuju emisiju gasova sa efektom staklene bašte, a pre svega metana. To je dokazano pri dodavanju tanina u obroke za krave. Tanini su biljni metaboliti, polifenoli rastvorljivi u vodi koji imaju afinitet vezivanja za proteine, aminokiseline, metalne jone i polisaharide, a takođe imaju i baktericidno dejstvo. S obzirom da deluju baktericidno na pojedine metanogene bakterije, oni mogu smanjiti enteričku proizvodnju CH₄ (Williams i sar., 2020). Dodatno, ekstrakt belog luka se može koristiti kao suplement kojim se postiže redukcija emisije CH₄ od strane mlečnih krava. Ovakav efekat ekstrakta belog luka se pripisuje organskim jedinjenjima sumpora među kojima se, kao kvantitativno i kvalitativno najznačajniji, ističe dialil disulfid, koji snažno inhibira enzimski sistem metanogenih arheja i suprimira populaciju protozoa u buragu, što je praćeno smanjenjem emisije metana za 60 – 70 procenata (Honan i sar., 2021). Konačno, poslednjih godina se kao nutritivni dodaci u ishrani goveda, koji smanjuju produkciju CH₄ u buragu i njegovu emisiju u spoljašnju sredinu, koriste ekstrakti različitih vr-

sta morskih algi, bilo samostalno bilo u kombinaciji sa drugim sastojcima koji stabilizuju mikrofloru buraga. Poznato je da crvene morske alge sadrže preko 1 500 metabolita od kojih se halogena ugljovodonična jedinjenja, uključujući bromometan i bromoform, dovode u vezu sa smanjenjem emisije CH₄ (Min i sar, 2021). Ova jedinjenja imaju dva ili tri ugljenikova atoma i deluju inhibitorno na enzime i koenzime metanogenih arheja, koji učestvuju u metanogenezi, što rezultira smanjenjem emisije metana za preko 95 procenata (Machado i sar, 2014). Međutim, uprkos dobrim rezultatima koji se postižu dodavanjem ekstrakta crvenih morskih algi, postoje podeljena mišljenja o opravdanosti njihove primene zbog toga što je ona praćena oslobađanjem halogenih ugljovodonika u atmosferu koji, različitim putevima, doprinose klimatskim promenama (Abbot i sar, 2020). Zbog toga su se, kao posebno interesantne, istakle braon morske alge, koje imaju veoma nizak sadržaj bromoforma, a bogate su polifenolima kao što su florotanini (Min i sar, 2021), koji imaju širok spektar antimikrobne aktivnosti i snažno suprimiraju rast celulolitičkih bakterija u buragu, dovodeći do smanjenja emisije metana za preko 90 procenata (Machado i sar, 2014).

ZAKLJUČAK

Poznavanje metabolizma krava je od izuzetnog značaja za utvrđivanje mesta interakcije pojedinih metaboličkih puteva i time, po potrebi, njihovo preusmeravanje prema poželjnijim krajnjim proizvodima metabolizma. Kada je u pitanju metabolički put proizvodnje metana, koji je nepoželjan krajnji proizvod metabolizma sa aspekta zaštite životne sredine, ključno mesto koje otvara mogućnost modulacije ovog puta je prihvatanje vodonika od strane metanogenih arheja. Svi alternativni putevi metabolizma u kojima se preuzima vodonik i uključe u procese u kojima će se sintetisati proizvodi koji povećavaju nutritivnu vrednost mleka ili mesa su interesantni u istraživanjima vezanim za smanjenje emisije metana iz buraga krava uz povećanu proizvodnju ovih jedinki uz očuvanje njihovog zdravlja i dobrobiti.

Zahvalnica:

Istraživanje je sprovedeno uz podršku Fonda za nauku Republike Srbije, broj projekta 7750295, "Mitigation of methane production from dairy cattle farm by nutritive modulation of cow`s metabolism-MitiMetCattle".

LITERATURA

1. Abbott D.W., Aasen I.M., Beauchemin K.A., Grondahl F., Gruninger R., Hayes M., Xing X. 2020. Seaweed and seaweed bioactives for mitigation of enteric methane: Challenges and opportunities. *Animals*, 10:24-32. doi: 10.3390/ani10122432. 2. Ahmadzadeh-Gavahan L., Hosseinkhani A., Taghizadeh A., Ghasemi-Panahi B., Hamidian G., Cheraghi-Saray S., Vakili A. 2021. Impact of supplementing feed restricted ewes' diet with propylene glycol, monensin sodium and rumen-protected choline chloride during late pregnancy on

blood biochemical indices, body condition score and body weight. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114801. **3.** Bauman D.E., Griinari J.M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23:203–227. doi: 10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408. **4.** Bernard L., Leroux C., Chilliard Y. 2008. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606:67–108. doi: 10.1007/978-0-387-74087-4_2. **5.** Bougouin A., Appuhamy J.R.N., Ferlay A., Kebreab E., Martin C., Moate P.J., Eugène M. 2019. Individual milk fatty acids are potential predictors of enteric methane emissions from dairy cows fed a wide range of diets: Approach by meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 102:10616–10631. doi: 10.3168/jds.2018-15940. **6.** Chilliard Y., Martin C., Roual J., Doreau M. 2009. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. *Journal of Dairy Science*, 92:5199–5211. doi: 10.3168/jds.2009-2375. **7.** Ellis J.L., Dijkstra J., Kebreab E., Bannink A., Odongo N.E., McBride B.W. 2008. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *Journal of Agricultural Science*, 146:213–233. **8.** Fievez V., Colman E., Castro-Montoya J.M., Stefanov I., Vlaeminck B. 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function – An update. *Animal Feed Science and Technology*, 172:51–65. **9.** Honan M., Feng X., Tricarico J. M., Kebreab E. 2021. Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: modes of action, effectiveness and safety. *Animal Production Science*. <https://doi.org/10.1071/AN20295>. **10.** Janssen P.H., Kirs M. 2008. Structure of the archaeal community of the rumen. *Applied and environmental microbiology*, 74:3619–3625. doi: 10.1128/AEM.02812-07. **11.** Jose V.S., Sejian V., Bagath M., Ratnakaran A.P., Lees A.M., Al-Hosni Y.A., Gaughan J.B. 2016. Modeling of greenhouse gas emission from livestock. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 27. **12.** Jovanović L., Pantelić M., Prodanović R., Vujanac I., Đurić M., Tepavčević S. et al., 2017. Effect of peroral administration of chromium on insulin signaling pathway in skeletal muscle tissue of Holstein calves. *Biological trace element research*, 180:223–232. doi: 10.1007/s12011-017-1007-1. **13.** Kirovski D., Blond B., Katić M., Marković R., Šefer D. 2015. Milk yield and composition, body condition, rumen characteristics, and blood metabolites of dairy cows fed diet supplemented with palm oil. *Chemical and biological technologies in agriculture*, 2(1):1-5. **14.** Kirovski D., Sladojević Z. 2017. Prediction and diagnosis of fatty liver in dairy cows. *SM J Gastroenterology and Hepatology*, 3, 1-7. **15.** Liu Y., Whitman W.B. 2008. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125:171-189. doi: 10.1196/annals.1419.019. **16.** Lyu Z., Shao N., Akinyemi T., Whitman W.B. 2018. Methanogenesis. *Current Biology*, 28:727-732. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.021. **17.** Machado L., Magnusson M., Paul N.A., de Nys R., Tns omkiN. 2014. Effects of marine and freshwater macroalgae on in vitro total gas and methane production. *PLoS One*, 9, e85289. doi: 10.1371/journal.pone.0085289. **18.** Meale S.J., Chaves A.V., McAllister T.A., Iwaasa A.D., Yang W.Z., Benchaar C. 2014. Including essential oils in lactating dairy cow diets: effects on methane emissions. *Animal Production Science*, 54:1215-1218. **19.** Min B.R., Parker D., Brauer D., Waldrip H., Lockard C., Hales K., Augyte S. 2021. The role of seaweed as a potential dietary supplementation for enteric methane mitigation in ruminants: Challenges and opportunities. *Animal Nutrition*, 7:1371-1387. doi: 10.1016/j.aninu.2021.10.003. **20.** Mohammed R., McGinn S. M., Beauchemin K.A. 2011. Prediction of enteric methane output from milk fatty acid concentrations and rumen fermentation parameters in dairy cows fed sunflower, flax, or canola seeds. *Journal of Dairy Science*, 94:6057–6068. doi: 10.3168/jds.2011-4369. **21.** Myhre G., Shindell D., Bréon F.M. 2013. Chapter 8, Anthropo-

genic and natural radiative. In *Climate Change 2013: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Eds. T.F. Stocker, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 659-740. **22.** Pantelić M., Jovanović L., Prodanović R., Vujanac I., Đurić M., Čulafić T. et al, 2018. The impact of the chromium supplementation on insulin signaling pathway in different tissues and milk yield in dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102:41-55. doi: 10.1111/jpn.12655. **23.** Patra A. K. 2013. The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A meta-analysis. *Livestock Science*, 155:244-254. **24.** Podpečan O., Zrimšek P., Mrkun J., Goličnik M., Radovanović A., Jovanović L. et al, 2020. Thresholds of blood variables obtained by receiver operating characteristic analysis for indication of fat and glycogen content in the liver of postpartum dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 19:303-309. **25.** Prodanović R., Nedić S., Simeunović P., Borozan S., Nedić S., Bojkovski J. et al, 2021. Effects of chestnut tannins supplementation of prepartum moderate yielding dairy cows on metabolic health, antioxidant and colostrum indices. *Annals of Animal Science*, 21:609-621. **26.** Reisinger A., Clark H., Cowie A.L., Emmet-Booth J., Gonzalez Fischer C., Herrero M. et al, 2021. How necessary and feasible are reductions of methane emissions from livestock to support stringent temperature goals?. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 379, 20200452. doi: 10.1098/rsta.2020.0452. **27.** Rico D.E., Chouinard P.Y., Hassanat F., Benchaar C., Gervais R. 2016. Prediction of enteric methane emissions from Holstein dairy cows fed various forage sources. *Animal*, 10:203-211. doi: 10.1017/S1751731115001949 **28.** Tapio I., Snelling T.J., Strozzi F., Wallace R.J. 2017. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of animal science and biotechnology*, 8:1-11. doi: 10.1186/s40104-017-0141-0. **29.** Van Lingen H.J., Crompton L.A., Hendrix W.H., Reynolds C.K., Dijkstra J. 2014. Meta-analysis of relationships between enteric methane yield and milk fatty acid profile in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97:7115-7132. doi: 10.3168/jds.2014-8268. **30.** Williams S.R.O., Hannah M.C., Eckard R.J., Wales W.J., Moate P.J. 2020. Supplementing the diet of dairy cows with fat or tannin reduces methane yield, and additively when fed in combination. *Animal*, 14:464-472. doi: 10.1017/S1751731120001032.

MODULATION OF COWS METABOLISM AS A TOOL FOR THE ENVIRONMENTALLY FRIENDLY CATTLE PRODUCTION

Danijela Kirovski, Sreten Nedić, Ljubomir Jovanović, Radiša Prodanović, Milica Stojković, Dušan Bošnjaković, Ivan Vujanac

Summary

The agricultural sector represents the single most significant anthropogenic source of methane, with dairy farms the dominant contributor to methane emissions. Methane is the second most important greenhouse gas, after carbon dioxide, which is physiologically produced in the rumen of ruminants. Namely, the rumen represents an environment inhabited by a community of microorganisms (microbiome), which includes various species of anaerobic bacteria, archaea, protozoa, fungi, and phages. The

primary role of these microorganisms is to break down plant components that cannot be broken down by the host's enzymatic system, which results in the release of the end products of fermentation - volatile fatty acids. After resorption from the digestive tract, these fermentation products are used to synthesize complex compounds in various tissues (muscles, mammary gland, etc.), including proteins, fats and others, which make animal products nutritionally valuable for humans. However, fermentation processes in the rumen are accompanied by the release of carbon dioxide and hydrogen, which methanogenic archaea use for the synthesis of methane, whose excessive release into the environment contributes to the greenhouse effect and global warming. Additionally, the synthesis of methane in the rumen is a metabolic pathway through which 2-12% of food energy is lost. Therefore, the interest in reducing methane emissions is not only in environmental protection but also in the potential increase in animal productivity, which brings economic benefits to farmers, which are one of the crucial links in planning measures to reduce methane emissions from cattle farms. Different nutritional supplements can modulate metabolic processes and thus contribute to reducing methane emissions by dairy cows. In this regard, tannins and other plant extracts, such as garlic oil extract, but also extracts from various seaweeds, including red and brown seaweeds, are recognized as the most important supplements in reducing methane emissions.

Keywords: *enteric fermentation, methane, methanogenic archaea, modulation of metabolism, nutritional supplements*