Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

Veterinární univerzita Brno

Mendelova univerzita v Brně

MIKROP ČEBÍN a.s.

Zjišťování produkce plynů a stravitelnosti organické hmoty s využitím standardu fermentaci *in vitro* při použití zařízení ANKOM RF Gas Production System

Certifikovaná metodika

Jan Pozdíšek, Hana Procházková, Josef Illek, Pavel Horký, Filip Kopecký

Šumperk

2025

Autorský kolektiv

Ing. Jan Pozdíšek, CSc.[1]
MVDr. Hana Procházková[1]
doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.[2]
prof. Ing. Pavel Horký, Ph.D.[3]
Ing. Filip Kopecký[4]

[1]Agrovýzkum Rapotín s.r.o.
[2]Veterinární univerzita Brno
[3]Mendelova univerzita v Brně
[4]MIKROP ČEBÍN a.s.

Dedikace výsledku typu „Nmet“

Uplatněná certifikovaná metodika vznikla za podpory TAČR v rámci projektu SS06020190 „Vývoj antimetanogenního krmného suplementu pro zmírnění environmentálního dopadu z chovu hospodářských zvířat“ a Ministrestva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1223.

Uplatněná certifikovaná metodika byla schválena dne 29.12. 2025 Ministerstvem zemědělství vydáním osvědčení č. MZE-91364/2025-13141.

Určení publikace

Metodika uvádí ověřené postupy provádění testů biologicky aktivních látek, respektive suplementů krmných dávek skotu pro možné snížení produkce skleníkový plynů. Pro uplatnění testovaných suplementů je potřebné posouzení jejich účinků s ohledem na užitkovost zvířat. Metodika umožňuje další využití jako instrumentárium pro základní výzkum v oblasti fyziologie a výživy přežvýkavců. Kromě laboratoří výzkumných ústavů a univerzit umožní získání praktických doporučení pro praxi s dopady do ekonomiky živočišné výroby.

Oponovali

Ing. Jan Vodička, Ph.D. – Ministerstvo zemědělství

doc. Ing. Petr Novák, Ph.D. – Česká zemědělská univerzita v Praze

© Agrovýzkum Rapotín, s.r.o., 2025

ISBN 978-80-87592-41-0

Obsah

1. Cíl metodiky 4
2. Úvod 4
3. Sledování produkce plynů a aktivity fermentace *in-vitro* 4
4. Vlastní popis metodiky a ověřené postupy provedení 9
5. Srovnání novosti postupů 14
6. Popis uplatnění certifikované metodiky 14
7. Ekonomické aspekty 14
8. Seznam použité související literatury 15
9. Seznam publikací, které předcházely metodice 18
10. Obrazová příloha 19

1. CÍL METODIKY

Cílem této metodiky je předložit výzkumným laboratořím, univerzitním pracovištím a další odborné zemědělské veřejnosti souhrn poznatků a doporučení o možnostech využití zařízení ANKOM RF Gas Production System k měření produkce plynů vznikajících fermentací v bachoru. Dále jako instrumentárium pro studium fermentační aktivity bachoru a její ovlivňování testovanými suplementy a přírodními látkami, případně toxiny v krmných dávkách skotu.

2. ÚVOD

Seznam zkratek

ADF – acido-detergentní vláknina

AVG – aritmetický průměr

BLT – slepý pokus

BNLV – bezdusíkaté látky výtažkové

NDF – neutrálně-detergentní vláknina

NEL – netto energie laktace (v MJ)

NL – dusíkaté látky

PDIE – skutečně stravitelné dusíkaté látky („proteiny“) v tenkém střevě, které zahrnují ve střevě stravitelné nedegradovatelné dusíkaté látky a mikrobiální bílkoviny, které mohou být v bachoru syntetizovány z (v bachoru fermentovatelné organické hmoty) energie krmiva.

PDIN – skutečně stravitelné dusíkaté látky („proteiny“) v tenkém střevě, které zahrnují ve střevě stravitelné nedegradovatelné dusíkaté látky a mikrobiální bílkoviny, které mohou být v bachoru syntetizovány z degradovatelných dusíkatých látek krmiva.

RV – referenční vzorerk

sd – směrodatná odchylka

Vl – vláknina

3. SLEDOVÁNÍ PRODUKCE PLYNŮ A AKTIVITY FERMENTACE *IN-VITRO*

Zjišťování množství plynů, které je uvolňováno při kultivaci v mediu na bázi šťáv z bachoru přežvýkavců (skotu) *in-vitro,* bylo ve výzkumu využíváno pro různé účely. Jednalo se o zjišťování v souvislosti s hodnocením výživné hodnoty krmiv, zachycením efektu fenolických látek a mykotoxinů na fermentační aktivitu bachoru, ale také možné ovlivnění zracích procesů při výrobě kvalitních potravin, sýrů apod.

3.1 Zjišťování výživné hodnoty krmiv

Na základě provedených *in-v*itro testů (Steingass H., Menke K. H., 1986) a dále navazujících prací je využíváno stanovování množství plynů při fermentaci s mediem na bázi šťáv, které jsou odebírány z bachoru skotu a fermentovány v zařízení vyvinutém univerzitou. Získané hodnoty jsou po dosazení do regresních rovnic spolu se zjištěným chemickým rozborem krmiv používány ke stanovení

stravitelnosti organické hmoty a navazující predikci energetické hodnoty testovaných krmiv. Postupně byly doplňovány „kalibrační“ rovnice pro rozdílné skupiny testovaných krmiv.

3.2 Ovlivnění aktivity bachorové fermentace fenolickými látkami

V souvislosti s řešením projektu GAČR 521/99/0863: „Chemická charakteristika a biologická aktivita fenolických sloučenin v lučních rostlinách“, byla tato problematika podrobně studována a řešena. Výstupem řešení projetu byla dále uvedená monografie: Míka V., Gaisler J., Kalač P., Klejdus B., Kohoutek A., Komárek P., Kubáň V., Odstrčilová V., Pozdíšek J.: Fenolické látky v lučních rostlinách, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 2001, 115 s. ISBN 80-86555-07-0. V příspěvku uvádí (Komárek P., Pozdíšek J., 2001): „Vliv přídavku lučních bylin na fermentaci jílku vytrvalého, vojtěšky seté a jetele lučního“. In: Biologicky aktivní fenolické látky v zemědělských plodinách, Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha 2001, s. 37-45. ISBN 80-86555-08-9, autoři dokládají vliv fenolických látek na výživu zvířat.

Problematice biologická aktivity fenolických látek byla věnována konference „Aktuální poznatky v oblasti jakosti zemědělské a potravinářské produkce“, konaná v Brně 7. a 8. 11. 2001.

Pro studium aktivity fenolických látek ve výživě přežvýkavců, v rámci uvedeného úkolu, jsme použili zařízení „Vitrogest“, jehož funkční část s názvem „reaktor pro testování krmiv“ (užitný vzor reg. číslo PU 6596-97) umožňuje kultivaci navážky vzorků v definovaném objemu kultivačního media (45 ml). Řešení použitého zařízení poskytuje možnost kontinuálního měření objemu plynů, které jsou uvolňovány v průběhu fermentace jako ukazatel fermentační aktivity v definovaných podmínkách teploty a tlaku uvolňovaných plynů na úrovni tlaku atmosférického. Použité zařízení je konstruováno tak, že umožňuje současné použití třiceti „reaktorů-trubic“, které jsou ponořeny ve vodní lázni, jejíž teplota je udržována ultra termostatem na úrovni 39 °C. Pohyb kultivačního media v reakčním prostoru trubic je umožněn pomocí magnetických míchadel (rotujících příčně polarizovaných feritů). V sérii testů byla sledována aktivita bachorové fermentace připravených vzorků. Pro vlastní měření bylo sesbíráno a zakonzervováno (sušením v sušárně) deset druhů bylin. Jednalo se o tyto druhy: kopretina bílá, třezalka tečkovaná, kmín luční, řebříček obecný, smetánka lékařská, šťovík kadeřavý, šťovík růžkatý kakost luční, pryskyřník plazivý a svízel povázka. Usušené vzorky těchto bylin byly semlety na laboratorním mlýnku Pulverisette 15 (fy. Fritsch). Takto získané a upravené vzorky bylin byly ve stabilizované sušině smíchány se stejně připravenými vzorky jílku vytrvalého, vojtěšky seté a jetele lučního. Smícháním těchto vzorků pícnin s jednotlivými bylinami v poměru 9:1, 3:1 a 1:1 bylo připraveno celkem devadesát vzorků, které byly kultivovány s bachorovou tekutinou (mediem). Pro testování bylo navažováno přesně cca 0,31 g vzorků o známé sušině v šesti opakováních (do šesti „trubic“). Šest „trubic“ sloužilo jako srovnávací varianta (pícnina bez byliny) a dále byla uplatňována „nulová varianta“ (kultivační medium bez vzorku). Měřený objem plynů, které jsou uvolňovány kultivací jednotlivých navážek testovaných vzorků je korigován o množství plynů, které je zjišťováno při současné kultivaci použité bachorové tekutiny (media) bez navážek vzorků.

Na základě zjištěných hodnot lze konstatovat, že vyšší podíly bylin mohou výrazně ovlivnit aktivitu bachorové fermentace a tím i (na základě známých vztahů ke stavitelnosti organické hmoty) snižovat významně stravitelnost krmných dávek. Naopak nízké koncentrace některých bylin mohou při méně významném snížení aktivity bachorové fermentace vykazovat příznivý dietetický účinek např. ve snížení rizika tympanie, případně lze pozitivně hodnotit i snížení zátěže vnějšího prostředí ve stájích. U některých bylin je potřebné pak na základě dříve zjištěných skutečností upozornit i na ovlivňování dobrovolného příjmu krmiv. Při porovnání sledovaných účinků testovaných bylin je také zajímavé, že

jsou rozdíly mezi bylinami ve vztahu k pícnině (tráva, jeteloviny), se kterou byly účinky testovaných bylin porovnávány.

Při studiu působení fenolických látek je potřebné si uvědomit, že často výsledný efekt je spojen se synergií pro projevení odezvy. Takový pozitivní efekt byl zaznamenán v případě efektu zracího procesu při výrobě zrajících tvrdých sýrů.

3.3 Ovlivnění fermentační aktivity, bachoru mykotoxiny a jejich metabolity

Přítomnost mykotoxinů v potravinových surovinách a krmivech zvířat má negativní odezvu. V rámci projektu č. QI111B044: „Komplexní strategie pro minimalizaci negativního dopadu infekce toxinogenními houbami rodu *Fusarium* v obilovinách a odvozených produktech“, byly uspořádány pokusy *in vitro*, zaměřené na posouzení vlivu mykotoxinů na fermentační aktivitu v bachoru přežvýkavců.

Jakost obilovin jako suroviny pro výrobu potravin a krmiv významně snižuje přítomnost mykotoxinů. Pro studium působení mykotoxinů ve výživě přežvýkavců jsme použili, jako u fenolických látek, zařízení „Vitrogest“, jehož funkční část s názvem „reaktor pro testování krmiv“ (užitný vzor reg. číslo PU 6596-97) umožňuje kultivaci navážky vzorků v definovaném objemu kultivačního media (45 ml). Za zajímavý lze označit pokles aktivity bachorové mikroflory s dobou kultivací při porovnání kultivací inokulovaných a neinokulovaných vzorků ječmenů. Poklesy lze zaznamenat až od 10., příp. 12. hodiny kultivace. V dobách předcházejících nebyl významný pokles zaznamenán do cca 8 hodin od začátku kultivací Při zohlednění ředění bachorových šťáv v mediu byl zjištěn průměrný pokles počtu nálevníků o 12 tis. v 1 ml tekutiny při kultivacích inokulovaných vzorků ve srovnání se vzorky neinokulovanými ze sklizní roku 2011 a o 5,5 tis. u vzorků ze sklizňového roku 2012. Použití uplatněného postupu sledování zahrnovalo i efekt synergického působení směsí mykotoxinů a jejich metabolitů „koktejlu“, který je významný pro objektivní posuzování vlivů na metabolismus, zdraví a reprodukci chovaných zvířat. K této části řešeného projektu je možné uvést tyto příspěvky:

Džuman Z. a kol., (2012): Osud mykotoxinů v gastrointestinálním traktu přežvýkavců, studie *in-vitro*. In: Výzkum vývoj a aplikace nových postupů zaměřených na kontrolu a minimalizaci vlivů činitelů s negativním dopadem na zdravotní bezpečnost zemědělských surovin, produktů a potravin. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha 20.11.2012, ISBN 978-80-7427-117-5, s. 37-42. ISBN 978-80-7427-117-5

Pozdíšek J. a kol., (2014): Testy *in vitro* pro porovnání změn aktivity bachorové fermentace při aplikaci zrna kontaminovaného mykotoxiny. In: Výzkum v chovu skotu, Rapotín, roč. LVI, č. 1, sv. 203, s. 2-7, ISSN - 0139-7265

3.4 Produkce emisí plynů v chovech přežvýkavců a její možné snižování

V rámci úsilí o snížení nepříznivých trendů vývoje změny klimatu stanovila EU ambiciózní cíle snížit emise skleníkových plynů (GHG). K dosažení tohoto cíle EU byla spuštěna řada iniciativ – jednou z nich je i nařízení o sdílení úsilí, které je aktualizováno v rámci legislativního balíčku Fit for 55. Nařízení o sdílení úsilí stanovuje závazné cíle pro snížení emisí skleníkových plynů pro každou zemi EU v odvětvích, na která se nevztahuje systém obchodování s emisemi, jako je doprava, zemědělství, budovy a nakládání s odpady. Tato odvětví tvoří většinu skleníkových plynů v EU (asi 60 % celkových emisí EU). V rámci nařízení jsou stanoveny pro každou zemi závazné roční cíle v oblasti emisí skleníkových plynů na období 2021–2030 a také pravidla pro stanovení ročních emisních přídělů a pro hodnocení pokroku. Parlament České republiky 14. března 2023 odhlasoval zvýšení cíle pro snížení emisí skleníkových plynů do roku 2030 z 30 % na 40 % ve srovnání s rokem 2005.

Řada zemí EU se zavázala podstatně snížit své celkové emise skleníkových plynů, včetně emisí metanu z chovů hospodářských zvířat (Fitzpatrick a kol., 2020). Přirozeně v přírodě, pochází většina metanu z mokřadů a bažin. Metan (CH_4) je jedním ze tří hlavních skleníkových plynů spolu s oxidem uhličitým (CO_2) a oxidem dusným (N_2O). Je vysoce účinný a má potenciál ke globálnímu oteplování 28krát vyšší než CO_2 (Fitzpatrick a kol., 2020). Rámcově se odhaduje, že celkové celosvětové emise skleníkových plynů z hospodářských zvířat představují 14,5 % celkových antropogenních emisí a 40 % z nich připadá na metan produkovaný trávicí soustavou přežvýkavců, zvláště skotu. Uvolňování metanu z trávicího traktu přežvýkavců při trávení krmiv (především sacharidů) patří mezi významné původce emisí tohoto skleníkového plynu ze zemědělství (Knaap a kol., 2014), což je důvod, proč je mu v posledních dvou desetiletích věnována celosvětová pozornost a hledají se různé přístupy výzkumu této problematiky. Kromě metanu na farmách vznikají a do atmosféry unikají i jiné plyny, jako jsou čpavek, sirovodík, oxid uhličitý a oxid dusný (Jedlička, 2020). Metan má však mnohem kratší životnost než CO2 v atmosféře (poločas rozpadu 8,6 roku), což z něj činí atraktivní cíl pro krátkodobější výsledky v oblasti snižování globálního oteplování.

Většina (asi 90 %) metanu vzniká v bachoru skotu procesem mikrobiální metanogeneze. Kromě environmentálních důsledků představuje produkce metanu v bachoru také značnou ztrátu energie pro zvíře (Johnson a Johnson, 1995), která se pohybuje od 2 do 12 % hrubého energetického příjmu přežvýkavců (Ježková, 2023). Hristov a kol. (2013) uvádí, že metan představuje průměrnou ztrátu 5 až 7 % energie z přijatých krmiv. Další autoři zmiňují, že z energetického hlediska mají emise CH_4 spojené s fermentačními aktivitami mikroorganismů v bachoru za následek ztrátu 6–12 % hrubého energetického příjmu nebo 8–14 % stravitelného energetického příjmu přežvýkavců (Johnson et al., 1993; Johnson a Johnson, 1995; Okine a kol., 2004), které by v zásadě mohly být jinak dostupné pro růst zvířat nebo produkci mléka. Snížení emisí CH_4 u skotu by tedy prospělo nejen životnímu prostředí, ale zlepšilo by i efektivitu produkce masa a mléka, a tím ekonomický zisk (Min et al., 2022). Uvolňování metanu je silně ovlivněno chemickým složením krmiv (Beauchemin a kol., 2008) a příjmem sušiny (Pozdíšek et al., 2008), který určuje objem fermentovatelných krmných substrátů. (Ježková, 2023). Existuje proto několik možností pro snížení emisí metanu, jako např. změny ve výživě krav nebo inhibice mikrobiální produkce plynů v bachoru. Vzhledem k tomu, že výživa zvířat má vliv na parametry bachoru, mohou některé strategie výživy přispět ke snížení emisí metanu do životního prostředí, aniž by to nepříznivě ovlivnilo produkci masa a mléka. Změna ve výživě však nesmí být toxická ani škodlivá pro zvířata, jejich produkty nebo životní prostředí. Některé výzkumy prokázaly, že zlepšení kvality krmiva znamenají vyšší příjem, zlepšení živočišné produkce, snížení absolutních nároků na energii pro záchovu a snížení produkce CH_4 na jednotku živočišné produkce (Hristov a kol., 2013). Knapp et al. (2014) referuje, že obecně platí, že nižší kvalita krmiva vede k vyšším emisím CH_4.

Jak bylo prokázáno v experimentech, určité přirozené chemické látky rostlin ovlivňují metabolismus v bachoru tím, že inhibují metanogeny (Byrne, 2023); některé složky krmiv však mohou účinkovat právě naopak. Brask a kol. (2013) uvádí, že vysoká koncentrace neutrálně-detergentní vlákniny (NDF) v krmivu urychluje produkci kyseliny octové v bachoru a vede k vyšší produkci CH_4. Vzhledem k tomu, že koncentrace NDF v krmivu negativně koreluje se stravitelností organické hmoty (Látal a Pozdíšek, 2010), zvýšení stravitelnosti krmiv má za následek zlepšení fermentačního profilu v bachoru, který vytváří podmínky pro změny v produkci CH_4 (Muñoz a kol., 2016). Nižší emise CH_4 v důsledku lepší stravitelnosti píce zaznamenali také Neto a kol. (2015) u pastevně chovaného skotu se škrobovým doplňkem podávaným buď samostatně, nebo v kombinaci s olejem. V odborné literatuře jsou průměrné emise odhadovány na 43 kg CH_4 /rok/ kus. Podobné výsledky zmiňují San Vito a kol. (2016)

za experimentálních podmínek. V tomto experimentu dobytek přijímal zvyšující se dávky glycerinu a v průměru emitoval 48 kg CH_4 / rok / kus.

Machado a kol. (2022) se ve svém přehledu zabývali strategiemi ke zmírnění emisí metanu u přežvýkavců chovaných na pastvinách. Autoři uvádějí, že skot vyprodukuje 55 až 58 kg CH_4 ročně. Při sledování nárůstu tropické trávy Marandu o různých výškách (15, 25 a 35 cm) a uvedli, že průměrné emise CH_4 byly 47 kg / rok. Skot však přijímal proteinový energetický doplněk v množství 0,3 % živé hmotnosti, který zlepšuje stravitelnost zkonzumované píce, a tím snižuje produkci CH_4 (Van Lingen a kol., 2019). Meziplodiny trav a luskovin mohou také zlepšit stravitelnost píce a snížit emise CH_4, jak prokázali Berça a kol. (2019), kteří srovnávali trávu Marandu (při roční dávce dusíku 150 kg/ha) s trávou Marandu s meziplodinou podzemnice (*Arachis pintoi*). Emise metanu u pasoucího se skotu byly v tomto případě 51 a 48 kg CH_4 ročně.

Vliv obhospodařování travních porostů na nutriční charakteristiky čerstvé a konzervované píce a na enterické emise metanu u dojného skotu studovali Banning a kol. (2016). V této studii byl vyhodnocen existující mechanický model enterické fermentace oproti pozorování vlivu hospodaření na pastvinách na emise CH_4 ve třech pokusech prováděných v klimaticky řízených respiračních komorách. Varianty byly: míra hnojení dusíkem, stupeň zralosti trávy a úroveň příjmu krmiva a byly použity průměrné údaje z celkem 18 variant (4 varianty s travním porostem a 14 variant s travní siláží). Modelové predikce ukázaly systematický rozdíl v emisích CH_4 z travních porostů a travních siláží, který nebyl podpořen pozorovanými údaji. To pravděpodobně souvisí s velmi vysokým obsahem rozpustných sacharidů v travních porostech (o 170 g / kg sušiny navíc ve srovnání s travními silážemi) a chybnou predikcí jejich osudu a příspěvku k CH_4 v bachoru.

Bylo prokázáno, že zařazení jetele plazivého v porostech zlepšuje krmnou hodnotu píce; existuje však rozporuplná literatura týkající se jeho schopnosti snižovat emise CH_4 u přežvýkavců. Fitzpatrick a kol. (2020) ověřovali ve svých experimentech vliv výživy dojnic na enterickou emisi metanu. V roce 2019 byl proveden experiment na farmě, který zahrnoval tři varianty krmení: „TMR“ (travní siláž, kukuřičná siláž a koncentrát), „GR250“ spásaná tráva hnojená 250 kg N / ha a „CL150“ spásaná tráva s jetelem plazivým při hnojení 150 kg N / ha. Emise metanu byly měřeny v červenci a září pomocí techniky kalibrovaného stopovacího plynu fluoridu sírového (SF6) u 10 dojnic v každé skupině, které se otelily na jaře. Rozdíly v emisích CH_4 u tří diet se mezi červencovými a zářijovými odběry vzorků lišily a vzhledem k souvisejícím rozdílům v tělesné hmotnosti a stavu krav se dospělo k závěru, že příjem sušiny, kvalita píce a fáze laktace byly pravděpodobně určujícími faktory.

U pastvin v jižní oblasti Brazílie rotační pastva ovcí s cílovými výškami trávníku s dominancí *Lolium multiflorum* před a po pastvě 18 a 11 cm byla nejlepší strategie ke snížení emisí CH_4. Emise metanu klesly o 64 % na jednotku plochy a o 70 % méně na jednotku živočišného produktu ve srovnání s tradiční rotační metodou pastvy (Savian a kol., 2018). Snížení bylo ovlivněno nejen množstvím přijaté píce, ale také obsahem ADF a NDF v porostu. To naznačuje, že chemické složení (kvalita krmiva) se stává významné od okamžiku, kdy dávka krmiva již není hlavním limitujícím faktorem užitkovosti zvířat. Chemické složení krmiva začíná ve větší míře ovlivňovat tuto užitkovost a následně ovlivňovat emise skleníkových plynů a zmírňování následků produkce masa a mléka.

Souza Filho a kol. (2019) prováděli pozorování masného skotu v jižní Brazílii. Existovaly různé intenzity pastvy, definované čtyřmi výškami porostů (10, 20, 30 a 40 cm) na pastvině s ovsem setým (*Avena sativa*) a jílkem. Uvedli, že emise CH_4 byly nižší a užitkovost zvířat vyšší, když byla pastvina obhospodařována ve výšce mezi 23 a 30 cm. Poukázali také na to, že vzhledem k tomu, že většina venkovských producentů používá velmi nízké výšky pastvy, použití cílových výšek mezi 23–30 cm

pouze v jižní Brazílii má potenciál snížit emise skleníkových plynů o 13–14 %. To je zhruba polovina cíle 22–25% snížení enterické fermentace u hospodářských zvířat ze zemědělského sektoru, které brazilská vláda přislíbila v Pařížské dohodě.

Při srovnání různých produkčních systémů v Brazílii a Uruguayi se ukázalo, že zlepšování pastvin přísevy vhodných druhů vedlo ke snížení emisí skleníkových plynů (Machado et al., 2022). Ve složitých pasteveckých prostředích, jež se nacházejí na původních pastvinách, studie ukazují, že celková spotřeba sušiny vysvětlila 55 % CH_4 emitovaného skotem. Období největších emisí CH_4 přitom nastává, když má zvíře nejvyšší spotřebu sušiny, což odpovídá období největší živočišné produkce. Podle těchto autorů tedy ve zlepšených pastevních systémech, kde je příjem omezen nízkým objemem píce, poskytování kvalitnější potravy není vždy tou nejlepší strategií ke zmírnění emisí CH_4. Genro et al. (2013) referují, že emise CH_4 na kg živé hmotnosti na ha a rok byly nejnižší u nejvíce intenzifikovaných systémů (přirozená pastva zlepšená hnojením anebo vylepšená přisetými druhy). Konkrétně byly emise CH_4 na úrovni 85,7 g/kg živé hmotnosti pro systém hnojených přírodních pastvin osetých zlepšujícími druhy mírného pásma; 76,7 g pro systém hnojených přírodních pastvin 165 g pro kontrolu a bez zásahu. Autoři také došli k závěru, že zavedení adekvátních postupů hospodaření na pastvě pro zlepšení kvality pastvin zvýšilo produktivitu zvířat a mělo významný vliv na snížení emisí CH_4. To potvrdilo důležitost pastevního managementu, jež by umožnil větší příjem píce, zvýšení individuální užitkovosti zvířat a následně snížení emisí na jednotku plochy. Frekvencí sečení travních porostů, směsmi druhů, vadnutím a fermentací travních siláží ve vztahu k in vitro produkci metanu se zabývali také Weiby a kol. (2023).

Bylo publikováno mnoho přehledů enterické produkce CH_4 u skotu (Waghorn a Hegarty, 2011; Knaap a kol., 2014; Patra a kol., 2017; Arndt a kol., 2020), které se zaměřují spíše na možnosti zmírnění než na pochopení vztahů mezi vlastnostmi krmiv a krmných doplňků a enterickými emisními faktory v bachoru. Přehled, který vypracovali Min a kol. (2022), si klade za cíl vysvětlit, jak jsou enterické emise CH_4 spojeny s dobrovolným příjmem sušiny, příjmem energie, průměrným denním přírůstkem, nádojem, energeticky korigovaným mlékem, rychlostí fermentace v bachoru a změnami bachorové mikroflóry u mléčného a masného skotu.

Vytvoření účinných řešení ke zmírnění emisí metanu z trávicích systémů krav je vzhledem k uvedeným skutečnostem aktuální. Je potřeba vyvíjet metody a postupy, které umožní získání objektivních kvalitních dat o množství a složení plynů, které vznikají při fermentaci v bachoru a k dalšímu studiu fermentační aktivity, které umožní testování možných suplementů, případně dalších úprav krmných dávek zvířat.

4. VLASTNÍ POPIS METODIKY A OVĚŘENÉ POSTUPY PROVEDENÍ

Princip

Přístroj ANKOM RF Gas Production System je navržen pro měření kinetiky mikrobiální fermentace automatizovaným způsobem sledováním teploty a tlaku plynu v rámci více modulů a vzdáleným zápisem dat, který umožňuje jejich transport pro další zpracování. Systém zaznamenává teplotu a tlak v jednotlivých modulech a ve vnějším prostředí. Zařízení může obsahovat až 50 jednotlivých modulů, které přenáší informace do počítače pomocí vysokofrekvenčního přenosu. Z rozhraní počítače může operatér ovládat řadu proměnných, jako jsou intervaly záznamu dat a automatické uvolňování tlaku prostřednictvím vnitřních ventilů v každém modulu. Inkubace probíhá ve 250 ml skleněných modulech opatřených septem pro odběr vyprodukovaných plynů, které se kultivují ve vodní lázni

opatřené „třepáním“. V našem případě je během jednoho běhu možno testovat na 5 pozicích. Pro testování suplementů je použit 1 g referenčního (standardního) vzorku krmiva o známé stravitelnosti zjištěné v bilančních pokusech. Jedna pozice funguje jako vzorek slepý, kde je kultivováno medium bez přídavku testovaného vzorku. Zbývající moduly umožní testovat referenční vzorek krmiva s přídavkem ruminální tekutiny krav krmených odstupňovaným množstvím testovaného suplementu.

Pufrovací roztoky pro přípravu kultivačního media – dle doporučení výrobce

Mikrominerální roztok

$CaCl_2 . 2 H_20$ 13,2 g

$MnCl_2 . 4 H_2O$ 10,0 g

$CoCl_2 . 6 H_2O$ 1,0 g

$FeCl_3 . 6 H_2O$ 8,0 g

Doplnit destilovanou vodou do objemu 100 ml

Makrominerální roztok

Na_2HPO_4 bezvodý 5,7 g

KH_2PO_4 bezvodý 6,2 g

$MgSO_4 . 7 H_2O$ 0,6 g

Doplnit destilovanou vodou do objemu 1 l

Pufrovací roztok

NH_4HCO_3 4 g

$NaHCO_3$ 35 g

Doplnit destilovanou vodou do objemu 1 l

Redukční roztok

Cystein HCl 625 mg

1n NaOH 4 ml

$Na_2S . 9 H_2O$ 625 mg

Doplnit destilovanou vodou do objemu 100 ml

Resazurin 0,1% roztok

Rozpustit 0,1 g resazurinu ve 100 ml vody

Přístroje a pomůcky

- ANKOM RF Gas Production System s programem F3
- Třepací vodní lázeň
- Analytické váhy
- Běžné laboratorní vybavení pro rozbory krmiv

Pracovní postup

Příprava kultivačního media

Pro přípravu 500 ml pufru (potřebný pro 5 inkubačních modulů)

Ke 250 ml destilované vody přimícháme 1,25 g tryptikázy a 0,063 ml mikrominerálního roztoku. Po rozpuštění k roztoku přidáme 125 ml pufrovacího roztoku, 125 ml makrominerálního roztoku a 1 ml roztoku resazurinu. Smícháním vznikne konečný pufr.

Do každého skleněného kultivačního modulu nalijeme 80 ml konečného pufru a přisypeme 1 g přesně naváženého vzorku (standardu), na pozicích Ko, P1, P2 a P3 a BLT – bez přídavku standardu (slepý vzorek). Teplotu v kultivačních lahvích necháme vyrovnat po dobu 20-30 minut při teplotě 39 °C vodní lázně. Během temperování pufru se vzorkem si připravíme bachorové inokulum.

Bachorová tekutina byla odebírána od krav s voperovanou kanylou pomocí sondy připojené na vakuovou pumpu. V testech byly použity čtyři krávy, jejichž analogické krmné dávky byly doplněny na pozicích: Ko-pšeničnou moukou (použitou pro výrobu testované směsi, P1 až P3 bylo v krmných dávkách uplatněno odstupňované množství testované směsi s biologicky aktivním komponentem. Odebraná tekutina byla přecezena přes sítko do předem připravených vytemperovaných termosek a přepravena do laboratoře pro další zpracování.

K vytemperovému vzorku přidáme 1 ml redukčního roztoku z důvodu odstranění kyslíku z pufrovacího roztoku, a nad obsahem skleněné lahve se pomocí plynného CO_2 vytvoří plynná přikrývka a vytěsní vzduchu ze skleněné lahve pro zajištění anaerobního prostředí v modulu před jeho uzavřením. Do každé lahve poté přidáme 20 ml bachorové tekutiny, uzavřeme a postupně připravíme všechny kultivační lahve.

Pro stanovení pH před vlastní kultivací se k 24 ml konečného pufru přidá 6 ml bachorového inokula a 0,3 g standardu. Konečné pH po kultivaci je měřeno přímo ve skleněných lahvích po odběru vzorku plynu a sundání hlav po ukončení kultivace.

Doporučení nastavení přístroje:

- „Interval čekání“ („Live interval“) na 1 s
- „Interval záznamu“ („Recording interval“) na 2 min
- „Celkové uvolnění“ („Global release“) na 500 mbar
- „Jednotky tlaku“ („Pressure units“) na mbar
- „Jednotky teploty“ („Temperature units“) na °C
- „Doba otevření ventilu“ („Valve open time“) na 250 ms

Spuštění programu

Sklenice připravené ke kultivaci se nechají vyrovnávat 20 minut v třepací vodní lázni nastavené na 39 °C. Následně provedeme „odvzdušnění“ vypuštění dosud nahromaděných plynů v kultivačních sklenicích po dobu 3 sekund a zahájíme vlastní měření.

Udržování teploty vody v kultivační lázni (39 °C a udržení anaerobního prostředí je důležité pro minimalizaci stresu mikroorganizmů z bachoru.

Ukončení měření

Po 48 hodinové kultivaci je provedeno ukončení měření a uložení naměřených dat: teplota a atmosférický tlak v laboratoři, teplota tlak v kultivačních sklenicích v nastavených intervalech měření (mbar, °C).

Odběr plynů

Po ukončení kultivace je přes septum odebrán vzorek plynu pomocí plynotěsných stříkaček do předem připravených „vialek" obsahujících roztok solanky. Takto je vzorek nachystán pro transport do laboratoře pro stanovení obsahu konkrétních plynů po kultivacích na plynovém chromatografu.

Čištění odvzdušňovacího ventilu

Po každé kultivaci je nezbytné provést čištění odvzdušňovacích ventilů na každé hlavě. K čištění je nejprve použita stříkačka s teplou mýdlovou vodou. Po ní dojde k proplachu destilovanou vodou a před vlastním vyschnutím je ventil ještě profouknout vzduchem. Veškeré čištění je nutno provádět při otevřeném ventilu hlavy.

Výpočet

Zapsané hodnoty tlaku (mbar) teploty (°C) na 6 měřených pozicích (lab., Ko, P1, P2, P3 a BLT) byly převedeny na tlak (kPa) a teplotu (°K). Získaná data byla dosazena do vzorce (dle doporučení výrobce), který využívá Avogadrova zákona pro vyjádření produkce plynů na gram sušiny. RV. Pro získání konečných dat byla odpočtena produkce slepého vzorku „pozadí". Vlastní vyhodnocení produkce plynů je prováděno s v mililitrech celkových plynů a mililitrech metanu, po. zjištěném procentu jeho zastoupení v celkových plynech.

4.1 Výsledky ověření metodiky pro testování suplementů s využitím zařízení ANKOM gas

Testy byly prováděná s použitím zvířat, která byla ustájena a krmena individuálně v pokusné stáji „Gabrielov 1" Rapotín.

Na pracovišti v Rapotíně (akreditovaném uživatelském zařízení) při použití čtyř kusů krav s bachorovými kanylami a odpovídajícím množství kvalitních konzervovaných krmiv. Byly sestaveny vyrovnané krmné dávky v systému NEL, PDI pro použitou kategorií zvířat a také pro naplnění metodických záměrů k testování odezvy zařazených suplementů s odstupňovaným zastoupením v krmných dávkách pokusných zvířat. Vedle zjišťování produkce plynů byly též prováděny testy stravitelnosti organické hmoty, s použitím standardního krmiva (RV) a využitím postupů certifikované metodiky (Pozdíšek J., Trojanová H., 2019).

V tabulce 1 jsou uvedeny požité základní krmné dávky v naturálním množství a v přijatých živinách. Ve druhé části tabulky jsou uvedeny použité doplňky. Krmná dávka byla předkládána zvířatům (její podíl) 2x za den.

Tab. 1: Krmné dávky pokusných zvířat a příjem živin

	Dávka	Živiny příjem					
Krmivo na kus	kg	sušiny	NEL	PDIE	PDIN	N-látky	VL
	pův Suš.	kg	MJ	g	g	g	kg
Seno luční	9,00	7,70	31,66	461,5	305,1	495,4	2,98
Travní siláž	4,00	1,57	9,02	138,3	172,8	279,8	0,36
Kukuřice siláž	3,00	1,07	6,86	88,4	54,8	85,6	0,22
BIOSAN SKOT	1,60	1,38	8,88	126,6	128,0	165,1	0,10
Miner. směs	0,10	0,09	0,00	0,0	0,0	0,0	0,00
Příjem zákl. dávka	17,70	11,81	56,42	814,8	660,6	1025,9	3,66
Suplement na kus							
M0-Ko-0,20	0,20	0,18	1,44	19,4	18,7	27,0	0,01
M1-P1-0,15	0,15	0,13	1,05	14,5	14,1	18,2	0,00
M1-P2-0,20	0,20	0,18	1,40	19,3	18,8	24,2	0,01
M1-P3-0,30	0,30	0,26	2,10	28,9	28,2	36,3	0,01
M0 pšeničná mouka							
Suplement M1 (pšeničná mouka + biologicky aktivní látky)							

Tab. 2: Produkce plynů a metanu na gram sušiny standardního krmiva

Rapotín		**Plynů ml / gsuš. RV bez BLT**				**ml CH_4 / gsuš. RV bez BLT**			
Gabrielov1	pozice	1 Ko	2 P1	3 P2	4 P3	1 Ko	2 P1	3 P2	4 P3
Na kus	(kg)	MO 0,20	M1 0,15	M1 0.20	M1 0,30	MO 0,20	M1 0,15	M1 0.20	M1 0,30
Kult. čas	8h								
AVG	ml	**69,293**	57,009	54,552	53,998	**10,779**	7,541	7,279	7,239
Sd	ml	**0,487**	0,471	0,467	0,487	**0,036**	0,023	0,028	0,030
Kult. čas	16h								
AVG	ml	**105,893**	99,088	98,153	87,788	**16,371**	12,969	12,940	11,661
Sd	ml	**0,672**	0,469	0,713	0,583	**0,202**	0,135	0,171	0,154
Kult. čas	24h								
AVG	ml	**126,481**	114,897	114,233	108,960	**19,120**	14,716	14,733	14,116
Sd	ml	**0,050**	0,202	0,205	0,205	**0,048**	0,032	0,050	0,050
Kult. čas	32h								
AVG	ml	**136,290**	130,804	131,799	125,730	**20,767**	16,875	17,120	16,411
Sd	ml	**0,607**	0,616	0,595	0,481	**0,213**	0,170	0,171	0,157
Kult. čas	40h								
AVG	ml	**140,862**	136,587	139,027	130,159	**20,930**	17,206	17,637	16,569
Sd	ml	**0,283**	0,192	0,140	0,228	**0,077**	0,062	0,048	0,070
Kult. čas	48h								
AVG	ml	**145,247**	142,035	145,679	134,681	**21,923**	18,158	18,751	17,413
Sd	ml	**0,118**	0,220	0,175	0,136	**0,012**	0,018	0,024	0,020
M0 pšeničná mouka (kg / kus)									
Suplement M1 (pšeničná mouka + biologicky aktivní látky kg / kus)									

V tabulce 2 jsou sestaveny průměrné hodnoty zjištěných objemů plynů (ml / sušiny RV) produkce plynů z pěti použitých měření. V hodnocených kultivačních dobách (8, 16, 24, 40, a 48 hodin). Pro vyjádření variability produkce jsou uvedeny střední statistické hodnoty z pěti opakování (průměr (AVG), a hodnoty směrodatných odchylek.

Po zohlednění množství plynů, která byla zaznamenána při kultivaci media bez dodání testovaného referenčního krmiva (standardu), to je slepý pokus (BLT) je možno porovnávat produkci plynů na gram sušiny standardu jako kritéria možného efektu dodaných aktivních látek v posuzovaném suplementu.

Nejvyšší produkce plynů byla zjištěna u varianty M0, ve které byl v krmné dávce aplikován přídavek pšeničné mouky, která byla využívána pro přípravu suplementu M1, do kterého byly přidány biologicky aktivní látky (taniny a pod.). Z porovnávaných dat je patrný pokles produkce plynů se zvyšováním dotace suplementu do krmných dávek zvířat a také měnící se míra poklesů v porovnávaných dobách kultivace, která má souvislost s degradací v bachoru a reálnou výtokovou rychlostí.

Po srovnání zjištěných stravitelností organické hmoty bylo konstatováno, že její snížení oproti kontrole bylo minimální a neprůkazné.

5. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Metodika je zaměřena na objektivní zjišťování produkce plynů při kultivaci RV v mediu, složeném z pufrovacích roztoků a bachorových šťáv od zvířat, která mají v krmných dávkách zařazeny odstupňované hladiny biologicky aktivních látek s cílem otestování jejich účinnosti a racionálního zastoupení v krmné dávce. Testy uspořádané podle předmětné metodiky dávají předpoklad také pro provedení prací pro hodnocení fyziologie bachoru a její modifikace. Provádění testů na produkci plynů je potřeba doplnit o kontrolu možného snížení stravitelnosti organické hmoty, která má vztah k využití energie (ME, NEL) krmiv. Dále je potřebné posoudit možné ovlivnění příjmu sušiny krmných dávek. Objektivní testy suplementů na produkci plynů v bachoru a doplňkové ověření je předpokladem, že takové nové komplexní testování umožní podchytit i vazby na užitkovost a produkci zvířat

6. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Metodika uvádí postupy provádění testů biologicky aktivních látek, respektive suplementů krmných dávek skotu pro možné snížení produkce skleníkový plynů. Pro vhodné uplatnění testovaných suplementů je potřebné také posouzení jejich účinků s ohledem na užitkovost zvířat. Vlastní metodika umožňuje i další využití jako instrumentárium pro základní výzkum v oblasti fyziologie a výživy přežvýkavců.

7. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Využití metodiky umožní objektivní testování prostředků pro možné snižování emisí z chovu skotu, jejich optimální dávkování z hlediska funkčnosti a ceny. Ekonomické hodnocení musí být nedílnou součástí biologických testů. Suplement je doporučitelný tehdy, pokud přináší pozitivní ekonomickou bilanci nebo významné snížení emisí při minimální nákladové zátěži. V případě, kdy ve složení

suplementu jsou významným podílem zastoupeny obiloviny (krmná mouka), lze zejména při odchovu skotu počítat s efektem „funkčního přídavku jádra“, jak bylo prokázánu v projektu QI101C199 (Využití synergického účinku funkčního přídavku jádra). V provedeném testu, který je součástí metodiky, bylo snížení emisí CH_4, po 24 hodinách kultivace na úrovni 25 %. Podle fyziologických parametrů bachoru je možné očekávat i dobrý zdravotní stavu zvířat a snížení nákladů na veterinární péči.

8. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

ARNDT, C., HRISTOV, A.N., PRICE, W.J., MCCLELLAND, S.C., PELAEZ, A., WELCHEZ, S.F.C., OH, J., BANNINK, A., BAYAT, A.R., CROMPTON, L.A., et al. (2020): Successful strategies to reduce enteric methane emission from ruminants: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.,* 103: 157. Available online: https://www.adsa.org/Meetings/2020-Annual-Meeting

BANNING, A., WARNER, D., CHUKO, B.H., ST-PIERRE, J.L., DIJKSTRA, J. (2016): Quantifying effects ov grassland management on enteric methane emission. *Animal Production Science*, 56 (3): 409-416. DOI:10.1071/AN15594.

BEAUCHEMIN, K.A., KREUZER, M., O’MARA, F., MCALLISTER, T.A. (2008): Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 21- 27.

BERÇA, A.S., CARDOSO, A.S., LONGHINI, V.Z., TEDESCHI, L.O., BODDEY, R.M., BERNDT, A., REIS, R.A., RUGGIERI, A.C. (2019): Methane production and nitrogen balance of dairy heifers grazing palisade grass cv. Marandu alone or with forage peanut. *J Anim Sci.,* 97 (11): 4625-4634.

BRASK, M., LUND, P., HELLWING, A.L.F., POULSEN, M., WEISBJERG, M.R. (2013): Enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in dairy cows fed different forages with and without rapeseed fat supplementation. *Animal Feed Science and Technology*, 184: 67-79.

BYRNE, J. (2023): Daffodil extract could reduce methane emissions in dairy cows by 30 %. [on line] Dostupné z: https://www.feednavigator.com/Article/2023/07/12/Daffodil-extract-could-reduce-methane-emissions-in-dairy-cows-by-30.

DŽUMAN Z., VEPŘÍKOVÁ Z., FENCLOVÁ M., HAJŠLOVÁ J., POZDÍŠEK J., KŘÍŽOVÁ L., STRYK J., Zachariášová M. (2012): Osud mykotoxinů v gastrointestinálním traktu přežvýkavců, studie in-vitro. In: Výzkum vývoj a aplikace nových postupů zaměřených na kontrolu a minimalizaci vlivů činitelů s negativním dopadem na zdravotní bezpečnost zemědělských surovin, produktů a potravin. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha 20.11.2012, ISBN 978-80-7427-117-5, s. 37-42.

FITZPATRICK, E., O’DONOVAN, M., CONDON, T., GILLILAND, T.J., HENNESSY, D. (2020): A comparison of dairy cow methane losses from grazed and confined diets. In: Virkajärvi, P et al. Meeting the future demands for grassland production. Proceedings of the 28th General Meeting of the European Grassland Federation, Helsinki, Finland, 19-22 October 2020, pp. 394-396.

GENRO, T.C.M., FARIA, B.M. DE, ROSSETTO, J., CEZIMBRA, I.M., SAVIAN, J., CARVALHO, P.C. DE F, BAYER, C., BERNDT, A., SILVA, M.A.P. DA, YOKOO, M., CARDOSO, L.L., OLIVEIRA, P.P.A., VOLK, L.B. DA S., AMARAL, G.A. (2013): Desempenho e emissão de metano de novilhos Hereford emastagem nativa usada em diferentes níveis de intensificação. *Anuário Hereford and Braford.,* 192-197.

HRISTOV, A.N., OTT, T., TRICARICO, J., ROTZ, A., WAGHORN, G., ADESOGAN, A., DIJKSTRA, J., MONTES, F., OH, J., KEBREAB, E., OOSTING S.J. (2013): Mitigation of methane and nitrous oxide

emissions from animal operations: I.A review of enteric methane mitigation options. *Journal ov Animal Science,* 91: 5045-5069.

JEDLIČKA, M. (2020): Vliv struktury krmné dávky dojnic na produkci skleníkových plynů. [on line] Dostupné z: https://naschov.cz/vliv-struktury-krmne-davky-dojnic-na-produkci-sklenikovych- plynu/.

JEŽKOVÁ, A. (2023): Produkce metanu a tuky chráněné proti fermentaci v bachoru. [on line] Dostupné z: https://naschov.cz/produkce-methanu-a-tuky-chranene-proti-fermentaci-v-bachoru/

JOHNSON, D.E., HILL, T.M., WARD, G.M., JOHNSON, K.A., BRANINE, M.E., CARMEAN, B.R., LODMAN, D.W. (1993): Ruminants and other animals. In: KHALIL, M.A.K., Ed Atmospheric Methane: Sources, Sinks and Role in Global Change; NATO ASI Series 1: Global Environmental Change; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, Vol. 13, pp. 219–229.

JOHNSON, K.A., JOHNSON, D.E. (1995): Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci*., 73, 2483–2492.

KNAAP, J.R., LAUR, G.L., VADAS, P.A., WEISS, W.P., TRICARICO, J.M. (2014): Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci*., 97: 3231–3261.

KOMÁREK P., POZDÍŠEK J. (2001): Vliv přídavku lučních bylin na fermentaci jílku vytrvalého, vojtěšky seté a jetele lučního. In: Biologicky aktivní fenolické látky v zemědělských plodinách, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 2001, s. 37-45. ISBN 80-86555-08-9

LÁTAL, O., POZDÍŠEK J. (2010): Dobrovolný příjem sušiny siláže z trvalých travních porostů s rozdílným způsobem obhospodařování sklizených v roce 2008 u jalovic. Výzkum pro chov skotu-4/2010, s.42-52.

MACHADO, J. M. - MOTTA, E. A. M. DA - BARBOSA, M. R. - WEILER, R. L. - MILLS, A. - ONGARATTO, F. - MAIDANA, F. M. - MONTAGNER, P. - RODRIGUES, D. P. A. - SILVEIRA, D. C. (2022): Strategies to mitigate the emission of methane in pastures: enteric methane: a review. *Australian Journal of Crop Science*, 16 (6): 682-690.

MÍKA V., GAISLER J., KALAČ P., KLEJDUS B., KOHOUTEK A., KOMÁREK P., KUBÁŇ V., ODSTRČILOVÁ V., POZDÍŠEK J. (2001): Fenolické látky v lučních rostlinách, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 2001, 115 s. ISBN 80-86555-07-0

MÍKA, V., KOMÁREK, P., POZDÍŠEK, J. (2001): Fenolické látky v lučních bylinách a jejich biologická aktivita. In: Sborník z konference „Aktuální poznatky v oblasti jakosti zemědělské a potravinářské produkce“, konané v Brně 7. a 8. 11. 2001: 145

MIN, B.-R., LEE, S., JUNG, H., MILLER, D.N., CHEN, R. (2022): Enteric methane emissions and animal performance in dairy and beef cattle production: strategies, opportunities, and impact of reducing emissions. *Animals*, 12: 948. DOI: https://doi.org/10.3390/ani12080948

MUÑOZ, C., LETELIER, P.A., UNGERFELD, E.M., MORALES, J.M., HUBE, S., PÉREZ-PRIETO, L.A. (2016): Effects of pregrazing hergage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99: 7945-7955.

NETO, A.J., MESSANA, J.D., RIBEIRO, A.F., VITO, E.S., ROSSI, L.G., BERCHIELLI, T.T. (2015): Effect ov starch-based supplementation level combined with oil on intake, performance, and methane emissions of growing Nellore bulls on pasture. *Sci J Anim Sci*., 93 (5): 2275-2284.

OKINE, E.K., BASARAB, J.A., LAKI, A., GOONEWARDENE, L.A., MIR, P. (2004): Residual feed intake and feed efficiency: Differences and implications. In: Florida Ruminant Nutrition Symposium; The

University of Florida: Gainesville, USA. Available online: http://dairy.ifas.ufl.edu/files rns/2004/Okine.pdf.

PATRA, A., PARK, T., KIM, M., YU, Z. (2017): Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *J. Anim. Sci. Biotechnol.,* 8: 1–18.

POZDÍŠEK J., DŽUMAN Z., LÁTAL O., MIČOVÁ P. (2014): Testy in vitro pro porovnání změn aktivity bachorové fermentace při aplikaci zrna kontaminovaného mykotoxiny. In: Výzkum v chovu skotu, Rapotín, roč. LVI, Č. 1, SV. 203, S. 2-7, ISSN - 0139-7265

POZDÍŠEK J., KOHOUTEK A., LÁTAL O. SVOZILOVÁ M., ŠTÝBNAROVÁ M. (2008) Voluntary intake by cattle consuming forage from grasslands of different quality. In: Xie Haining, Huang Jiehua (eds) *Multifunctional Grasslands in a Changing World* – Volume II, Guangdong People's Publishing House, China, p. 731.

POZDÍŠEK, J., TROJANOVÁ, H. (2019): Stanovení stravitelnosti NDV *in vitro* s využitím zařízení ANKOM DAISI Incubator. Certifikovaná metodika. Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

SAN VITO, E., LAGE, J.F., MESSANA, J.D., DALLANTONIA, E.E., FRIGHETTO, R.T.S., REIS, R.A., NETO, A.J., BERCHIELLI, T.T. (2016): Performance and methane emissions of grazing Nellore bulls supplemented with crude glycerin. *Sci J Anim Sci.,* 94 (11): 4728-4737.

SAVIAN, J.V., SCHONS, R.M.T., MARCHI, D.E., FREITAS, T.S., NETO, G.F..S, MEZZALIRA, J.C., BERNDT, A., BAYER, C., CARVALHO, P.C.F. (2018): Rotatinuous stocking: A grazing management innovation that has high potential to mitigate methane emissions by sheep. *J Clean Prod*., 186 (10): 602-608.

SOUZA FILHO, W., NUNES, P.A.A., BARRO, R.S., KUNRATH, T.R., DE ALMEIDA, G.M., GENRO, T.C.M. BAYER, C., CARVALHO, P.C.F. (2019): Mitigation of enteric methane emissions through pasture management in integrated crop-livestock systems: Tradeoffs between animal performance and environmental impacts. *J Clean Prod*., 213: 968-975.

STEINGASS H., MENKE K. H. (1986): Schätzung des energetischen Futterwerts aus der *in vitro* mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analysen. In: *Untersuchungen zur Methode*. Obers. Tierernärung, 14, 251–270.

VAN LINGEN, H.J., NIU, M., KEBREAB, E., VALADARES FILHO, S.C., ROOKE, J.A., DUTHIE, C.A., SCHWARM, A., KREUZER, M., HYND, P.I., CAETANO, M., EUGÈNE, M., MARTIN, C., MCGEE, M., O'KIELY, P., HÜNERBERG, M., MCALLISTER, T.A., BERCHIELLI, T.T., MESSANA, J.D., PEIREN, N., CHAVES, A.V., CHARMLEY, E., COLE, N..A, HALES, K.E., LEE, S.S., BERNDT, A., REYNOLDS, C.K.,CROMPTON, L.A., BAYAT, A.R., YÁÑEZ-RUIZ, D.R., YU, Z., BANNING, A, DIJKSTRA, J., CASPER, D.P., HRISTOV, A.N. (2019): Prediction of enteric methane production, yield and intensity of beef cattle using an intercontinental database. *Agric Ecosyst Environ,* 283: 106575.

WAGHORN, G.C., HEGARTY, R.S. (2011): Lowering ruminant methane emissions through improved feed conversion efficiency. *Anim. Feed Sci. Technol*., 166: 290–301.

WEIBY, K.V., KRIZSAN, S.J., DØNNEM, I. et al. (2023): Effect of grassland cutting frequency, species mixture, wilting and fermentation pattern of grass silages on *in vitro* methane yield. *Sci Rep*, 13: 4806. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-023-31964-3.

9. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

KOMÁREK P., POZDÍŠEK J. (2001): Vliv přídavku lučních bylin na fermentaci jílku vytrvalého, vojtěšky seté a jetele lučního. In: Biologicky aktivní fenolické látky v zemědělských plodinách, ISBN 80-86555-08-9, Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha 2001, s.37-45.

LÁTAL, O., POZDÍŠEK J. (2010): Dobrovolný příjem sušiny siláže z trvalých travních porostů s rozdílným způsobem obhospodařování sklizených v roce 2008 u jalovic. Výzkum pro chov skotu-4/2010, s.42-52, ISSN 0139-7265

MÍKA V., GAISLER J., KALAČ P., KLEJDUS B., KOHOUTEK A., KOMÁREK P., KUBÁŇ V., ODSTRČILOVÁ V., POZDÍŠEK J. (2001): Fenolické látky v lučních rostlinách, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 2001, 115 s. ISBN 80-86555-07-0

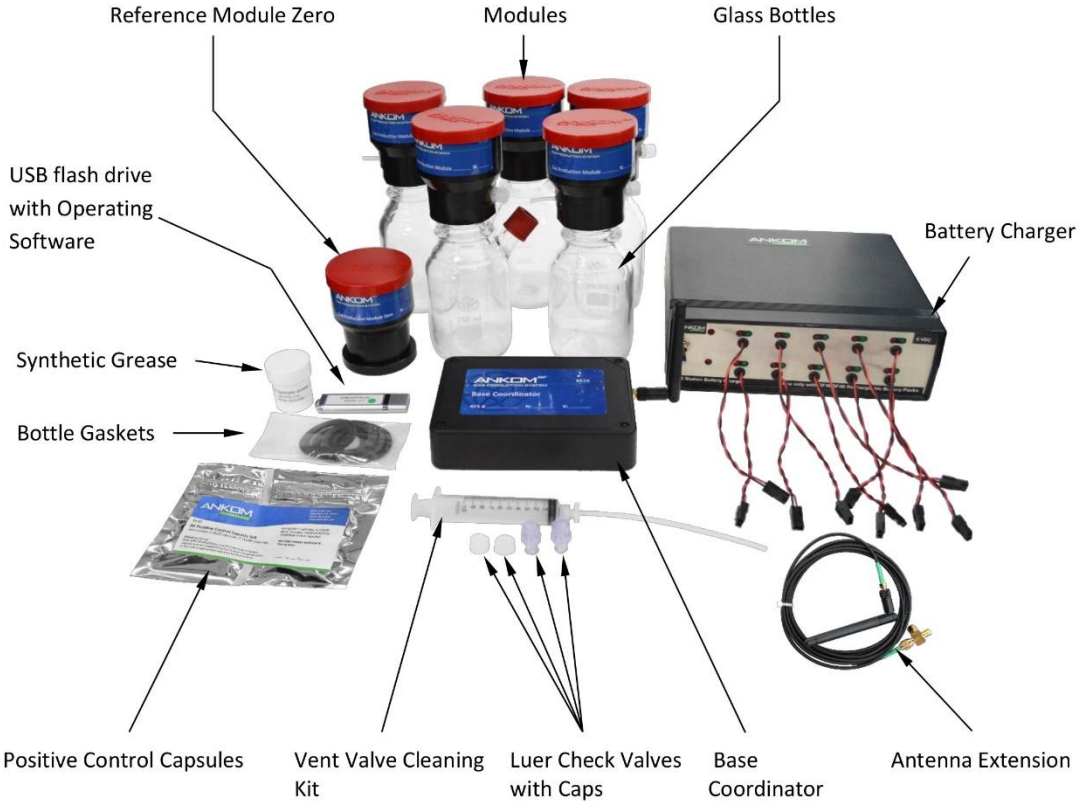
POZDÍŠEK J., DŽUMAN Z., LÁTAL O., MIČOVÁ P. (2014): Testy in vitro pro porovnání změn aktivity bachorové fermentace při aplikaci zrna kontaminovaného mykotoxiny. In: Výzkum v chovu skotu, Rapotín, roč. LVI, Č. 1, SV. 203, S. 2-7, ISSN 0139-7265

POZDÍŠEK J., KOHOUTEK A., LÁTAL O. SVOZILOVÁ M., ŠTÝBNAROVÁ M. (2008): Voluntary intake by cattle consuming forage from grasslands of different quality. In: Xie Haining, Huang Jiehua (eds) *Multifunctional Grasslands in a Changing World* – Volume II, Guangdong People's Publishing House, China, p. 731.

POZDÍŠEK, J., PROCHÁZKOVÁ, H. (2025): Zjišťování produkce plynů a stravitelnosti organické hmoty s využitím standardu fermentace *in-vitro* při použití zařízení ANKOM RF Gas a Daisy incubator. Výzkum v chovu skotu, 3/2025, s. 13-22, ISSN 0139-7265

POZDÍŠEK, J., TROJANOVÁ, H. (2019): Stanovení stravitelnosti NDV *in vitro* s využitím zařízení ANCOM DAISI Incubator. Certifikovaná metodika. Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

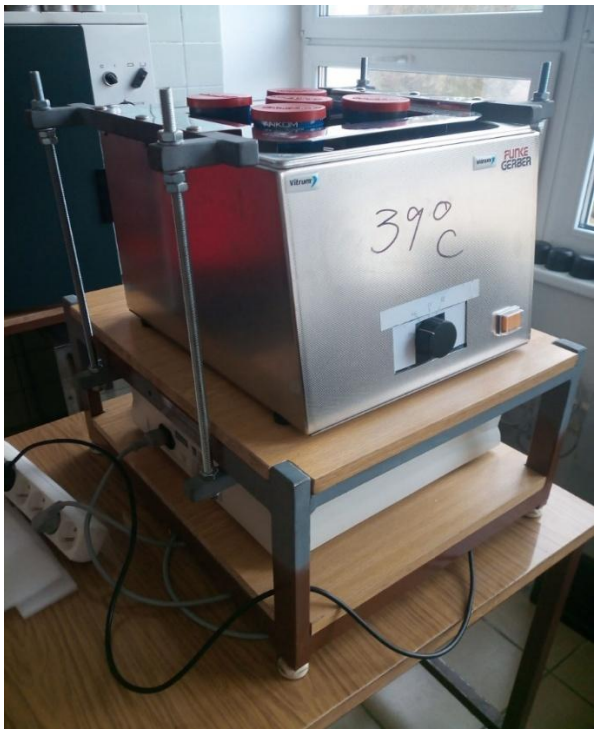
10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA



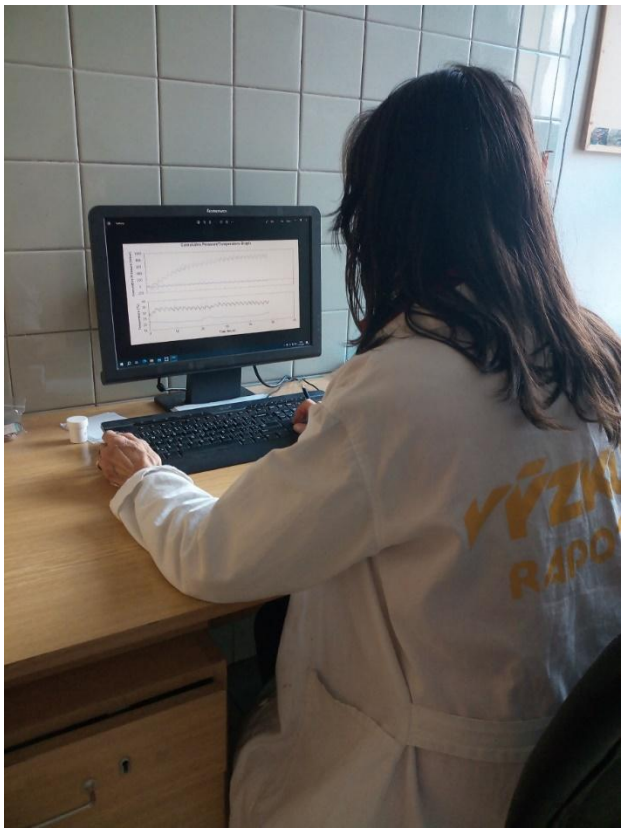
Obr. 1: Zařízení ANKOM gass s pěti testovacími pozicemi

Obr. 2: Měřící moduly s mikroprocesorem

Obr. 3: Kultivační sklenice, 5 pozic v kultivační lázni s mícháním



Obr. 4: Celkový pohled na lázeň s „míchadlem“



Obr. 5: Kontrola průběhu kultivace (tlak a teplota v lahvích

Obr. 6: Ddběr plynů po kultivaci přes septum

Obr. 7: Příprava vzorků plynů na transport do laboratoře