

**Sharon A. Huws,* Gareth W. Griffith,
Joan E. Edwards, Hefin W. Williams,
Penri James, Iwan G. Owen ac
Alison H. Kingston-Smith**

**Sicrhau argaeledd
cynnyrch cilgnowyr o'r
ansawdd gorau mewn
modd effeithlon**

Gwerddon

CYFNODOLYN ACADEMAIDD CYMRAEG

Golygydd Yr Athro Ioan Williams

Sicrhau argaeledd cynnyrch cilgnowyr o'r ansawdd gorau mewn modd effeithlon.

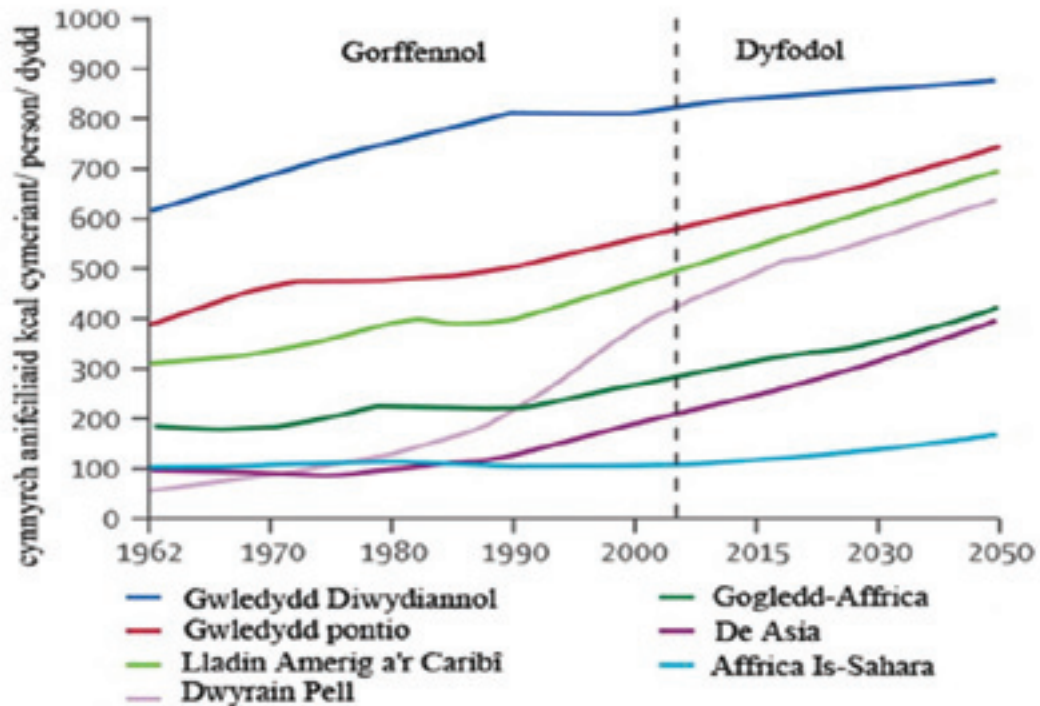
Sharon A. Huws,* Gareth W. Griffith, Joan E. Edwards, Hefin W. Williams, Penri James, Iwan G. Owen ac Alison H. Kingston-Smith.

Cyflwyniad

Mae gwartheg (da byw) yn cyfrannu tua 1.4 y cant o gynnyrch crynswth amaethyddol byd-eang gyda'r diwydiant yn cyflogi rhyw 20 y cant o boblogaeth y byd (FAO, 2006). Ceir gwrthdaro rhwng defnyddio tir tuag at fagu da byw yn hytrach na chynhyrchu grawn i'w fwyta gan bobl, neu gynhyrchu planhigion i'r diwydiant biodanwydd (Broudiscou a Jouany, 1995; Asner et al., 2004; Scollan et al., 2011) neu adeiladu tai (Kingston-Smith et al., 2010). Serch hynny, mae cynnyrch da byw yn cyfrannu rhan bwysig a sylweddol tuag at ein deiet, gan ddarparu canran uchel o'r fitaminau a'r maetholion sydd eu hangen arnom (Neuman et al., 2003), yn enwedig ar gyfer datblygiad corfforol a meddyliol plant (ibid., 2003). Felly, mae amaethyddiaeth a chynnyrch cilgnowyr yn bwysig, nid yn unig i lwyddiant yr economi fyd-eang, ond er mwyn sicrhau ein hiechyd (Kingston-Smith et al., 2010). Er hyn, mewn gwledydd datblygedig bwyteir cynnyrch cilgnowyr yn ormodol gan nifer o'r boblogaeth; arweinia hyn at broblemau iechyd difrifol, megis clefyd y galon a chanser y coluddyn (Martin et al., 2010). Canlyniad hyn yw lefelau uchel o frasterau asidig dirlawn o'u cymharu â brasterau asidig amlannirlawn yng nghynnyrch cilgnowyr (cymhareb nodweddiadol mewn cig eidion a llaeth o dros >0.1:1; Scollan et al., 2006; Månsson, 2008). Er hyn, sylweddolir bod cynnyrch cilgnowyr fel rhan o ddeiet cytbwys yn fuddiol i'n hiechyd (Kingston-Smith et al., 2010).

Dengys ystadegau diweddaraf Llywodraeth Prydain y bydd prinder byd-eang o gynnyrch cilgnowyr erbyn 2050 (Foresight, 2011). Mae hyn yn darogan y bydd poblogaeth y byd yn cynyddu dros y 40 mlynedd nesaf i gyrraedd 8.9 biliwn. Bydd y twf yn y boblogaeth yn rhoi straen ar gynhyrchwyr i gyflenwi'r galw am gynnyrch cilgnowyr. Yn ogystal â thwf y boblogaeth, mae galw cynyddol yng ngwledydd y Dwyrain Pell am gynnyrch cilgnowyr oherwydd y symudiad graddol i ddeiet mwy gorllewinol (FAOSTAT, 2009; Ffig. 1). Yn wir, mae'r rhagfynegiadau yn pennu mai gwledydd y Dwyrain Pell fydd yn tyfu fwyaf o ran eu darpar boblogaeth hefyd. Felly bydd y twf yn y boblogaeth a'r defnydd cynyddol o gynnyrch yng ngwledydd y Dwyrain Pell a gwledydd eraill yn achosi straen graddol ar argaeledd llaeth a chig. Y sialens i ymchwilwyr ym maes gwyddor anifeiliaid yw hybu tyfiant yr anifail, mewn modd cynaliadwy, er mwyn sicrhau diogelwch cyflenwadau llaeth a chig yn y blynyddoedd i ddod.

Ynghyd â sicrhau argaeledd digonol o laeth a chig i'r dyfodol, mae'n hollbwysig bod y cynnyrch o ansawdd da, ac yn cael ei gynhyrchu mewn modd sy'n sicrhau yr allyriadau nwyon tŷ gwydr isaf posibl (Foresight, 2011). Mae'r diwydiant magu da byw yn cyfrannu tua 9 y cant o allyriadau anthropogenig CO₂ a 37 y cant o fethan (sydd â photensial cynhesu fesul moleciwl 23 gwaith yn fwy na CO₂) byd-eang (FAO, 2006). Mae da byw



Ffigwr 1: Twf yn yr ymborth o gynnyrch da byw ers 1962 i 2050 (wedi ei addasu o McMichael et al., 2007).

hefyd yn dibynnu ar ddefnyddio dŵr ac yn cyfrannu at lygru dŵr, e.e. cyfranna carthion da byw tua 30 y cant o nitrogen a ffosfforws i'n hafonydd (Bouwman et al., 2011; FAO, 2006). Oherwydd yr allyriadau nitrogen a ddaw o'r anifail mae da byw yn cyfrannu at lefelau N₂O yn yr amgylchedd hefyd. Yn wir, cyfranna'r diwydiant magu da byw 65 y cant o'r holl N₂O anthropogenig gyda 35 y cant yn dod o garthion yr anifeiliaid (FAO, 2006). Er bod lefel N₂O yn yr amgylchedd yn gymharol isel mae gan y nwy hwn dros 296 gwaith yn fwy o botensial cynhesu'r amgylchedd na CO₂ a phery yn yr atmosffer am dros 100 o flynyddoedd.

Sicrhau argaeledd cynnyrch cilgnowyr o'r ansawdd gorau gyda chyn lleied o allyriadau nwyon tŷ gwydr i'r dyfodol

Bydd ateb y galw cynyddol am gynhyrchion cilgnowyr yn her fawr i lywodraethau, ffermwyr, diwydiannau amaethyddol, yr adwerthwyr ac i wyddonwyr yn y maes gan fod gwelliant sylweddol yng nghynnydd cynnyrch cilgnowyr wedi'i gyflawni yn ystod y 1970au a'r 1980au (McMichael et al., 2007). Er enghraifft, nid oes modd defnyddio mwy o dir ar gyfer magu da byw gan ein bod eisoes wedi cynyddu arwynebedd y tir sy'n cael ei ddefnyddio tuag at gynhyrchu llaeth a chig bron 700 y cant ers y 1970au (McMichael et al., 2007). Dim ond tri dull penodol y gellir eu hystyried i sicrhau argaeledd y cynnyrch gorau i'r dyfodol a hefyd leihau allyriadau nwyon tŷ gwydr, sef:

- (i) lleihau defnydd o gynnyrch cilgnowyr mewn ymborth gwledydd diwydiannol datblygedig a chyfyngu cynnydd yn eu defnydd yn y gwledydd sy'n datblygu;
- (ii) newid dulliau ffermio;
- (iii) defnyddio technoleg newydd (Gill et al., 2010; Scollan et al., 2011).

| | Deunydd cig (g y person y dydd) |
|---|--|
| Affrica | 31 |
| Dwyrain a De Asia | 112 |
| Gorllewin Asia (yn cynnwys y Dwyrain Canol) | 54 |
| America Ladin | 147 |
| Gwledydd sy'n datblygu (yn eu cyfanrwydd) | 47 |
| Gwledydd datblygedig (yn eu cyfanrwydd) | 224 |
| Cyfartaledd | 101 |

Tabl 1 Defnydd dyddiol o gig yn fyd-eang (wedi ei addasu o McMichael et al., 2007)

Mae poblogaethau gwledydd datblygedig, megis poblogaeth Prydain, yn bwyta tua 224g o gig y person y dydd o'i gymharu â 31g o gig y person y dydd yn Affrica (Tabl 1). Ceir dadl gref dros ostwng ymborth llaeth a chig mewn gwledydd datblygedig. Byddai hyn nid yn unig yn sicrhau argaeledd byd-eang ond hefyd yn dda i'n hiechyd ac yn lleihau allyriadau nwyon tŷ gwydr. Amcangyfrifir y byddai gostwng ymborth cig o 224g i 90g y person y dydd yn gostwng y tebygrwydd o ddatblygu clefyd y galon a chanser, yn enwedig canser y colon a'r rhefr (McMichael et al., 2007). Wrth gwrs, ni fydd cynnig polisïau a deddfu er mwyn gostwng deunydd cynnyrch cilgnowyr yn hawdd nac yn boblogaidd, ac o'u gwneud rhaid fyddai sicrhau strategaeth na fyddai'n effeithio'n andwyol ar economi amaethyddiaeth Prydain nac ychwaith yr economi fyd-eang.

Ceir hefyd ddadl gref y dylai Prydain newid i systemau dwys tebyg i systemau manau bwydo, fel y ceir yn yr UDA. Defnyddia'r systemau hyn lawer llai o dir a cheir lleihad mewn allyriadau nwyon tŷ gwydr (McMichael et al., 2007). Mewn adroddiad gan y Sefydliad Bwyd ac Amaeth (FAO, 2006) honnwyd bod allyriadau methan 4.5 gwaith yn llai mewn systemau ffermio dwys, ac allyriadau nitrig ocsid yn 1.75 gwaith yn llai na mewn systemau mwy traddodiadol lle defnyddir mwy o borthiant a llai o ddwysfwydydd i fwydo'r anifail. Wrth gwrs mae'r cyfrifiadau hyn wedi eu seilio ar nwyon tŷ gwydr/Kg o gig a gynhyrchir, ond gan fod mwy o dda byw mewn systemau ffermio dwys yn eu cyfanrwydd, maent yn cynhyrchu mwy o allyriadau gan nad yw effeithlonrwydd defnydd y porthiant wedi gwella. Er hynny, mae gwledydd yn Ne America megis Brasil, Bolivia a Paraguay yn symud yn gynyddol tuag at ffermio dwys. Yn Mhrydain ceir ymgyrchoedd sylweddol tuag at ffermio llai dwys, am resymau moesegol fel mae'n digwydd, felly nid yw'r syniad o newid i systemau dwys yn cael ei ffafrio gan rai o'r cwsmeriaid gan fod ffermio dwys yn cael ei gysylltu â ffermio ffatri. Yn wir, yn y systemau hyn, yn aml mae'r anifail yn cael ei gadw o dan do gyda llai o ryddid na phe bai allan yn pori.

Yr her ymchwil yng ngwyddorau anifeiliaid yw datblygu strategaethau gwreiddiol sy'n mynd i'r afael â'r sialensiau amaethyddol hyn. Er mwyn gwneud hyn mae'n angenrheidiol i ni gynyddu ein dealltwriaeth o gilgnowyr a'r ffactorau sy'n effeithio ar dwf, ansawdd ac ôl-troed amgylcheddol yr anifail wrth gynhyrchu llaeth a chig. Bydd yr erthygl yn awr yn canolbwyntio ar ddatblygu strategaethau gwyddonol newydd, yn seiliedig ar gynyddu ein dealltwriaeth o gilgnowyr, er mwyn sicrhau diogelwch llaeth a chig.

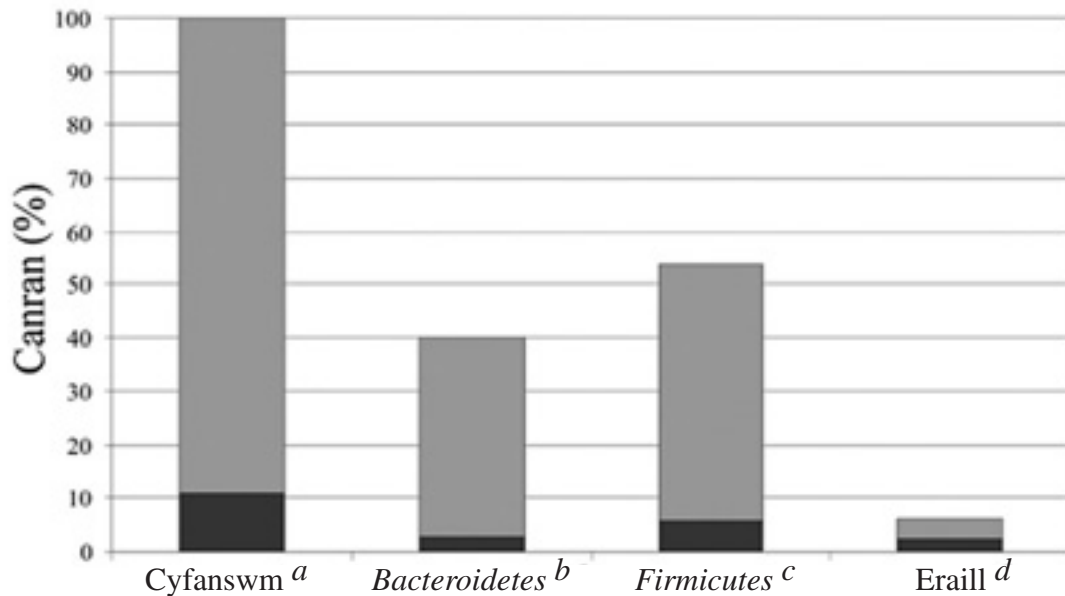
Anatomeg a ffisioleg stumog cilgnowyr

Mae gan gilgnowyr bedair siambr yn eu stumogau, sef y reticwlwm, y rwmen, yr omaswm a'r abomaswm (gyda'r olaf yn cyfateb i'r 'gwir stumog'). Wrth i borthiant gael ei lyncu mae'n llifo i lawr yr oesoffagws i'r reticwlwm. Wrth gyrraedd y reticwlwm gall y porthiant symud yn rhydd i'r rwmen, gan nad oes rhwystr mawr rhwng y ddwy siambr. Yn aml iawn gelwir y reticwlwm a'r rwmen yn reticwlo-rwmen. Y mae'r porthiant yn y reticwlwm yn cael ei ailchwydu, er mwyn ei ail-gnoi, cyn llifo yn ôl i lawr i'r reticwlwm. Yn y rwmen ei hun, trosir y porthiant i fomas microbaidd ac yna i gynhyrchion terfynol, e.e. protein ac asidau brasterog anwedol, sy'n cael eu defnyddio gan yr anifail i dyfu a chynhyrchu llaeth a chig. Yn wir, cyfranna'r eplesiad microbaidd fwyafrif y protein sy'n cyrraedd y dwodenwm gan gyfrannu at gynhyrchiad llaeth a chig (Broudiscou a Jouany, 1995). Heb ficro-organebau'r rwmen ni fyddai'r anifail yn medru gwneud defnydd o ddeunydd lignogellwosig cymhleth o fewn planhigion. Symuda rhywfaint o gynnwys y rwmen wedyn i'r omaswm ond ni wyddom sawl gwaith mae porthiant yn cael ei ailchwydu a'i sefydlu yn y rwmen cyn symud i'r omaswm. Pwrpas yr omaswm yw gwaredu'r dŵr a'r halen o'r cynnwys ac yna ymddwyn fel pwmp i symud cynnwys i'r abomaswm. Cynhyrchir ensymau ac asid hydroclorig yn yr abomaswm er mwyn diraddio cynnwys y rwmen ymhellach cyn i'r maetholion gael eu hamsugno drwy wal y coluddyn bach.

Y rwmen a'i ficro-organebau

Mae gan y rwmen gyfaint o tua 100 litr mewn gwartheg a thua 20 litr mewn defaid ac mae'n gynefin anaerobig, gyda pH rhwng 5.5 ac 8 a thymheredd o 39°C. Yn y rwmen ymgartrefa nifer eang o ficro-organebau gan gynnwys bacteria, protistiaid, ffwng, ac Archaea, sy'n medru llewyrchu heb ocsigen ac mewn tymheredd cymharol uchel. Gwyddom, trwy ddefnyddio microsgop, fod protistiaid y rwmen yn cynrychioli tua 10^5 o gelloedd/mL, ac o ran biomas maent yn cynrychioli'r cyfaint uchaf o ficro-organebau'r rwmen (50-60 y cant; Coleman a Williams, 1992). Gwyddom fod dau grŵp o brotistiaid, sef entodimorffidau a'r holotrichiaid (urddau tacsonomeg Entodiniomorphida a Vestibuliferida), sy'n perthyn i 17 genws (Coleman a Williams, 1992). Mewn cymhariaeth, cynrychiola'r ffwng tua 10^4 o gelloedd/mL yn y rwmen, a cheir chwe genws sy'n cynnwys *Neocallimastix*, *Orpinomyces*, *Piromyces*, *Anaeromyces*, *Caecomyces* a *Cyllamyces* (Hobson a Stewart, 1997; Ozkose et al., 2001; Edwards et al., 2008a). Dim ond tua 3 y cant o fomas y rwmen a gynrychiolir gan yr Archaea ac mae'n cynnwys pump genws cyn belled ag y gwyddom, *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*, *Methanoculleus* a *Methanosarcina* (Janssen a Kirs, 2008). Er eu dwysedd isel, yr Archaea methanogenig sy'n gyfrifol am holl allyriadau methan y rwmen (FAO, 2006).

Ar sail archwiliadau gyda microsgop, gwyddom fod y rwmen yn gynefin i tua 10^{11} o gelloedd bacteria/mL, gyda tua 80 y cant ohonynt ynghlwm wrth arwyneb y porthiant (Hungate, 1966; Hobson a Stewart, 1997). Yn hanesyddol mae ein dealltwriaeth o dacsonomeg a gweithgaredd y bacteria hyn wedi ei seilio ar y sawl y gellir eu meithrin yn y labordy (Hungate, 1966; Mackie a White, 1997), ond mae'r astudiaethau diweddaraf sy'n seiliedig ar DNA (heb yr angen i'w tyfu yn y labordy) wedi llwyr drawsnewid ein dealltwriaeth o facteria y rwmen yn syfrdanol (Mullis., 1990; Edwards et al., 2008b). Daeth yn amlwg mai dim ond canran isel iawn o facteria'r rwmen (tua 11 y cant) y gellir eu meithrin yn y labordy (Edwards et al., 2004; Kim et al., 2011a; Ffig. 2), yn bennaf o achos



Ffigwr 2: Bacteria'r rwmn sy'n methu cael eu tyfu yn y tiwb profi hyd yn hyn. Y ganran na feddir eu tyfu yn y labordy yn llwyd-olau a'r ganran y medrwn eu tyfu yn llwyd-dywyll (wedi ei gymryd o Edwards et al., 2008).

ein diffyg gwybodaeth am y maethion penodol sydd eu hangen i'w tyfu (Davis et al., 2005). Fodd bynnag, mae'r gallu i astudio microbau'r rwmn trwy buro ac astudio eu DNA wedi arwain at y canfyddiadau diweddaraf hyn ac wedi galluogi trawsnewid ein dealltwriaeth o ecoleg microbaidd y rwmn. Credir bellach fod dros 300 rhywogaeth o facteria yn byw yn y rwmn (Edwards et al., 2004; Kim et al., 2011a). Wrth gwrs, mae'r dechnoleg folecwlwr wedi datblygu cryn dipyn yn y blynyddoedd diwethaf. Gallwn yn awr gael gwybodaeth enfawr am strwythur tacsonomeg micro-organebau'r rwmn, o dan unrhyw amgylchiadau, trwy ddefnyddio dilyniannydd ail genhedlaeth (Schuster, 2008). Er hyn, mae'n bwysig nid yn unig i ddeall strwythur y cymunedau micro-organebol yn y rwmn, ond hefyd i ddeall eu gweithgareddau er mwyn datblygu technoleg i wella effeithlonrwydd defnydd maetholion y planhigyn gan gilgnowyr.

Gweithgareddau penodol microbiom y rwmn

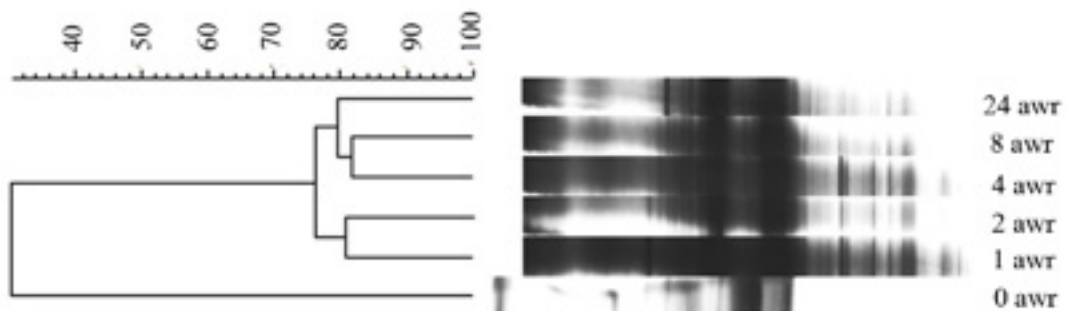
Twf yr anifail

Unig swyddogaeth y rwmn yw cynnal epleriad y microbau. Er mwyn sicrhau eplesu microbaidd llwyddiannus, mae diraddiad effeithlon o wal y planhigyn yn hanfodol. Os nad yw'r broses hon yn effeithlon, ni fydd y maetholion yng nghelloedd y planhigyn ar gael i ficro-organebau eu metaboleiddio ac yna i'w darparu i'r anifail er mwyn cynhyrchu llaeth neu gig. Cyn y datblygiadau molecwlwr, credid bod tair rhywogaeth o facteria yn gyfrifol am ddiraddio'r ffibr yn wal y planhigyn: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* a *R. Flavefaciens* (Harfoot a Hazlewood, 1997). Trwy ddefnyddio technoleg folecwlwr arloesol metagenomeg swyddogaethol (*functional metagenomics*), darganfuwyd bod nifer o ensymau hydrolases glycosyl (GH; yr ensymau sy'n diraddio carbohydradau mewn ffibr planhigion) yn bresennol yng ngenomau nifer o facteria (Ferrer et al., 2005; Brulc et

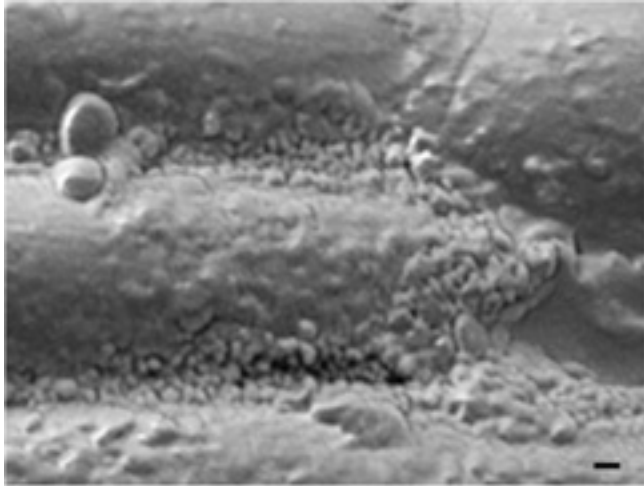
al., 2009; Li et al., 2009; Hess et al., 2011), protistiaid (Ricard et al., 2006; Qi et al., 2011) a ffwng (Qi et al., 2011). Gan fod gan yr ensymau hyn botensial enfawr i drin planhigion mewn eplesyddion ar gyfer y diwydiant biodanwydd, bu nifer o ymdrechion diweddar i ddarganfod ensymau gwreiddiol (e.e Hess et al., 2011). Ceir syniad ar <http://www.cazy.org/> o'r ystod eang o GHau sydd bellach wedi eu darganfod. Maent wedi eu dosbarthu i 130 teulu gwahanol ac fe'u disgrifiwyd ar http://www.cazypedia.org/index.php/Main_Page. Pwrpas y gwefannau hyn yw ehangu gwybodaeth am y teuluoedd a chaniatáu i wyddonwyr ychwanegu at y gronfa ddata.

Wedi diraddio wal y gell, mae'r microbau'n cael mynediad i gynnwys y gell, yn benodol i'r proteinau. Diraddir y protein i asidau amino cyn eu metaboleiddio i greu protein newydd o fewn celloedd y bacteria. Yna mae'r bacteria yn llifo i'r dwodenwm, gan gyfrannu'r rhan helaethaf o'r protein i'r anifail. Er bod y broses o fetaboleiddio asidau amino a phroteinau'r planhigyn gan y bacteria wedi esblygu dros filoedd o flynyddoedd, mae'n parhau yn aneffeithlon, gyda chyn lleied ag 20 y cant o'r protein yn y porthiant yn cael ei drosi i laeth a chig (MacRae et al., 1975; Dewhurst et al., 2000; Edwards et al., 2007; 2008b; Kingston-Smith et al., 2010). O ganlyniad, collir rhan sylweddol o nitrogen y planhigyn yng ngharthion yr anifail. Yn wir, aneffeithlonrwydd y rwmen sy'n bennaf cyfrifol am achosi llygredd nitrogen i'r dŵr ac N₂O i'r atmosffer (Edwards et al., 2008b; Kingston-Smith et al., 2010).

Rhaid yn amlwg ddeall y berthynas rhwng y porthiant a'r micro-organebau os ydym am wella defnydd nitrogen gan ficro-organebau'r rwmen (Mayorga et al., 2007; Edwards et al., 2008a; 2008b; Kingston-Smith et al., 2010). Gwyddom fod bacteria, protistiaid a ffwng yn adlynu wrth y porthiant o fewn 5 i 15 munud iddo gyrraedd y rwmen (McAllister, 1994; Mayorga et al., 2007; Edwards et al., 2007; 2008a; 2008b). Gwyddom hefyd, o ddefnyddio technoleg folecwlar *Dentauring Gradient Gel Electrophoresis* a *Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphisms*, fod yr amrywiaeth o facteria sydd ynghlwm wrth rygwel ffres rhwng yr amseroedd cynnar (0 i 2 awr) a nes ymlaen (4 i 24 awr) yn wahanol i'w gilydd (Ffig. 3). Trwy ddefnyddio *Fourier Transform-Ion Resonance (FT-IR)* i astudio cynnwys cemegol y planhigyn dros gyfnod o 24 awr o ddeor mewn hylif rwmen, gwelir bod strwythur cemegol y planhigion yn newid fwyaf rhwng 2 a 4 awr, yn gydamserol â'r newidiadau yn y rhywogaethau o facteria sydd ynghlwm wrth arwyneb y celloedd (data



Ffigwr 3: Dendrogram UPGMA ('Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean') yn seiliedig ar dechneg DGGE, 'Denaturing Gradient Gel Electrophoresis', yn dangos amrywiaeth 16S rDNA ynghlwm wrth rygwel ffres dros amser ar ôl deor yn rwmen gwartheg llaeth. Rhifau ar ôl pob proffil yn dangos amser ar ôl deor yn y rwmen. Graddfa yn ymwneud â chanran tebygrwydd.



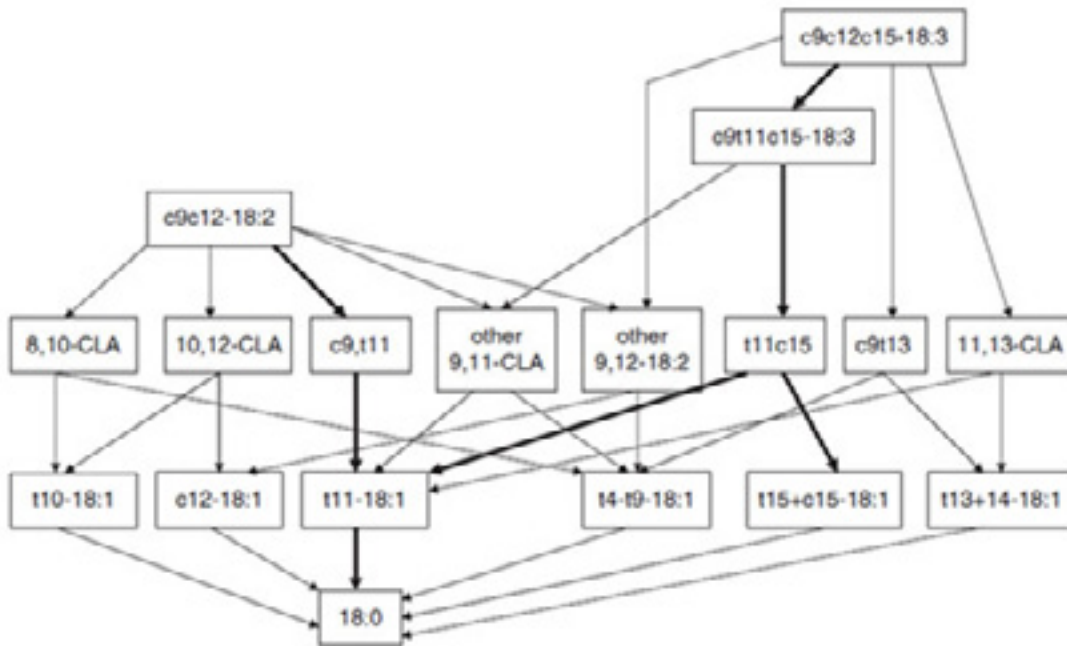
Figwr 4: Micro-organebau ynghlwm wrth porthiant yn y rwmn ac yn dangos ffenoteip biofilm. Graddfa – 100nm.

heb ei ddangos). Mae felly'n debygol bod gan y bacteria sy'n adlynu hyd at ddwy awr a'r rhai sy'n adlynu cyn pen dwy awr â gweithgareddau gwahanol mewn perthynas â diraddio a metaboleiddio cynnwys y planhigyn.

Ynghyd â deall yr adwaith rhwng y micro-organebau a'r porthiant, mae hefyd yn bwysig ystyried ffenoteip y bacteria sydd ynghlwm wrth arwyneb y porthiant. Gan ddefnyddio microsgopeg sganio electron (SEM) gwelir bod y micro-organebau ar arwyneb y porthiant fel arfer yn ffurfio biofilm (Fig. 4). Diffinnir biofilm fel cymuned o ficro-organebau sydd ynghlwm wrth unrhyw arwyneb ac yn cynhyrchu polymerau dalgellog sy'n cwmpasu'r gymuned (Costerton et al., 1999; Flemming a Wingender, 2010). Ymddengys bioffilmiau yn gyffredin ar ystod eang o arwynebau (e.e. pibellau dŵr, cerrig mewn afonydd a hyd yn oed ar ddannedd a phibellau corfforol mewn ysbytai) ac fe'u hadwaenir gan y lleygwr fel 'llysnafedd'. Ffenoteip y biofilm sy'n cynorthwyo'r micro-organebau sydd ynddo i amddiffyn eu hunain yn erbyn gwrthficrobau, gwrthgyrff ac ysglyfaethwyr fel protistiaid, tra ar yr un pryd yn crynhoi maeth ac enzymau o fewn y gymuned (Costerton et al., 1999). Nid yw'r rwmn yn eithriad, a gwyddom fod y ffenoteip hwn yn medru cynorthwyo'r micro-organebau i ddiraddio'r planhigyn trwy ei alluogi i ddal a chrynhoi enzymau yn agos i'r porthiant ei hun (McAllister et al., 1994). Felly, mae'r ffenoteip yn bwysig yn y broses o ddiraddio'r planhigyn ac mae hyn yn tanlinellu pwysigrwydd yr angen am ymchwil i ddeall mwy am y ffenoteip hwn a'i gyfraniad i'r berthynas rhwng y planhigyn a'r micro-organebau.

Ansawdd y cynnyrch

Awgrymir gan Sefydliad Iechyd y Byd y dylai cynnyrch da byw gyfrannu llai na >0.10 o asidau brasterog dirlawn (*Saturated fatty acids; SFA*) a'r telerau at gyfanswm egni yn y deiet, a dylai SFA gyfrannu >0.45 o'r deiet mewn cymhareb ag asidau brasterog amlannirlawn (*Polyunsaturated fatty acids; PUFA*) er mwyn bod yn fuddiol i'n hiechyd. Mae glaswellt ffres a silwair yn cynnwys tua 60 y cant o asid linolenig (18:3 n-3), 20 y cant o asid palmitig (16:0) a 15 y cant o asid linolëig (18:2 n-6). Er bod y porthiant yn cynnal cymhareb fuddiol o PUFA, mae llaeth, ac yn enwedig cig, yn uchel mewn SFA, yn enwedig asid stearig (18:0) (Dewhurst et al., 2003; Scollan et al., 2006; Lourenco et al., 2010; Kim et al., 2008; Huws et al., 2011). Daw hyn o ganlyniad i'r broses o biohydrogeniad, sef y broses



Figwr 5: Y llwybrau biocemegol cymhleth yn y broses o fiohydrogeniad yn y rwmn. (Wedi ei gymryd o Lourenco et al., 2010).

o dorri bondiau dwbl yn y PUFA gan facteria'r rwmn. Mae sawl cam i'r broses hon gyda'r bondiau dwbl yn asidau linolenig a linolëig yn cael eu torri mewn trefn benodol (Ffig. 5). Mae'r llwybr hydrogeniad sy'n dechrau gyda'r ensym isomerase yn achosi newid safle'r bond dwbl a geir ger carbon rhif 12, gan greu *cis-9, trans-11 18:2 n-6*, sef asid rhediadau linolenig (*Conjugated linoleic acid*). Mae'r asid brasterog *cis-9, trans-11 18:2 n-6*, fel yr asidau brasterog linolenig a linolëig, yn fuddiol i'n hiechyd (Lock a Bauman, 2004). Wedi hyn mae'r microbiota yn defnyddio ensym redyctas er mwyn gwaredu'r bond dwbl ar garbon 11, i greu *18:1 trans-11*. Gellir trosi *18:1 trans-11*, trwy weithrediad yr ensym *delta-9-destaurase*, yn ôl i *cis-9, trans-11 18:2 n-6* yn y chwarennau llaeth. Felly yn anuniongyrchol mae lefelau o *18:1 trans-11* yn medru bod yn dda i'n hiechyd gan fod y braster asidig hwn yn cael ei newid yn ôl i *cis-9, trans-11 18:2 n-6*, sy'n fuddiol i'n hiechyd (Griinari a Bauman, 1999).

Ynghyd â bod yn bwysig i ddiraddio waliau cell y planhigyn, mae'r cymunedau sydd ynghlwm wrth y porthiant hefyd yn bwysig yn y broses o drawsffurfio'r asidau brasterog yn y rwmn (Huws et al., 2011). Tan yn gymharol ddiweddar, roedd ein dealltwriaeth o'r micro-organebau oedd yn cyflawni'r broses o fiohydrogeniad wedi ei seilio ar nifer fach o facteria yr oedd yn bosibl eu hastudio yn y labordy: yn bennaf rhywogaethau *Butyrivibrio* (Kopečný et al., 2003; van de Vossenberg a Joblin, 2003; Wallace et al., 2006; Paillard et al., 2007; Moon et al., 2008; Lourenco et al., 2010). Wrth ddefnyddio technoleg folecwlar ynghyd â dulliau ystadegol amlamrywedd, dangoswyd bod nifer o rywogaethau o facteria, sydd eto heb eu meithrin yn y labordy, gan gynnwys aelodau o'r *Prevotella*, *Bacteroidales*, *Clostridiales* ac eraill, yn chwarae rhan bwysig yn y broses o fiohydrogeniad (Boeckert et al., 2008; Huws et al., 2011). Credir bellach bod y bacteria yn cyflawni'r broses hon gan fod y PUFA yn wenwynig iddynt ac mae eu trawsnewid i asidau brasterog dirlawn yn eu harbed rhag cael eu gwenwyno (Lourenco et al., 2010).

Prif ddiben cynyddu ein dealltwriaeth o fiohydrogeniad yn y rwmen yw datblygu strategaethau newydd i atal, neu leihau, y broses hon a thrwy hynny wella cyfansawdd y PUFA, sy'n fwy llesol i'n hiechyd mewn llaeth a chig. Annhebygol iawn y gellir datblygu ffyrdd uniongyrchol o rwystro'r bacteria rhag cyflawni'r broses o waredu'r bondiau dwbl, a hynny oherwydd yr ystod eang o facteria sy'n cyfrannu at y broses. Er hyn, mae rheoli lipolysis, sef y broses o ryddhau asidau brasterog amlannirlawn o'r lipidau, yn opsiwn i ostwng biohydrogeniad. Un posibilrwydd yw cynyddu lipolysis er mwyn rhyddhau lefelau uchel o asidau brasterog amlannirlawn ac felly wenwyno'r bacteria hyn. Y ddamcaniaeth yw ceisio lladd y bacteria sy'n gallu cynnal biohydrogeniad cyn iddynt ddechrau'r broses. I'r gwrthwyneb, buasai lleihau'r broses o lipolysis a gostwng lefelau asidau brasterog amlannirlawn ar gael i fynd trwy'r broses o fiohydrogeniad yn golygu byddai mwy o PUFA yn gallu cael eu trosglwyddo i laeth a chig.

Er mwyn deall y broses o lipolysis, rhaid, yn gyntaf, gynyddu ein dealltwriaeth o'r micro-organebau sy'n chwarae rhan yn y broses ynghyd â gweithrediad y lipasau eu hunain. Tan yn ddiweddar, *Anaerovibrio lipolytica* oedd yr unig facteriwm y gwyddid amdano sydd â'r gallu i drawsnewid triglyserid drwy ddefnyddio lipas (Hobson a Mann, 1961; Hungate, 1966), a *Butyrivibrio* oedd yr unig rywogaeth â'r gallu i drawsnewid ffosfolipasau (Harfoot a Hazlewood, 1997). Yn ôl dosbarthiad Arpigny a Jaeger (1999), mae'r lipidau yn cael eu rhannu'n wyth teulu ar sail eu dilyniant asid amino a'u nodweddion biolegol. Er y gwyddom fod *A. lipolytica* a rhywogaethau o *Butyrivibrio* yn cynhyrchu lipasau nid oes gennym unrhyw wybodaeth am strwythur na nodweddion biolegol y lipasau hyn.

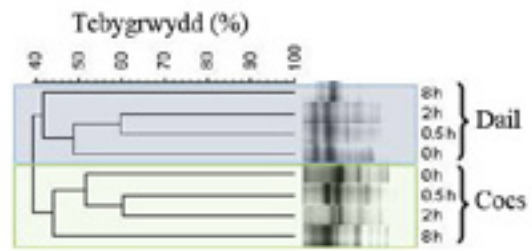
Trwy sgrinio metagenomig swyddogaethol o'r bacteria yn y rwmen, canfu Liu et al. (2009) ddau lipas a chanfu Privé et al. (2011a; 2011b) 14 o lipasau gwreiddiol eraill. Mae'r lipasau hyn yn wahanol iawn i'w gilydd ac yn perthyn i bob un o'r wyth categori y sonnir amdanynt gan Arpigny a Jaeger (1999). Ar yr un pryd dangosant dipyn o wahaniaeth yn eu dilyniant DNA ag asidau amino o'u cymharu â gweddill aelodau'r grwpiau, gyda dau ohonynt yn ffosfolipasau (Privé et al., 2011a; 2011b).

Yn ogystal â'u potensial yn y rwmen, mae'r ensymau hyn o ddiddordeb ehangach i'r diwydiant biotechnoleg, gan y gellir eu defnyddio i greu bioplastigau, aeddfedu caws, gwaredu lipidau o ledr yn y broses barcio, a chynhyrchu biodanwydd (Hasan et al., 2006; Ribeiro et al., 2011). Er bod dealltwriaeth o lipidau'r rwmen a phroses lipolysis wedi cynyddu rywfaint, rhaid deall rhagor cyn y byddwn mewn sefyllfa i ystyried y broses fel rheoliad o fiohydrogeniad, gyda'r bwriad o wella ansawdd cynnyrch cilgnowyr.

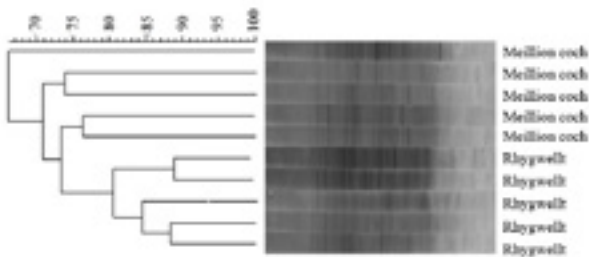
Effaith y porthiant ar amrywiaeth y micro-organebau sy'n cydio

Mae'r prosesau cychwynnol o ddiraddio porthiant yn y rwmen yn arbenigol, a gwyddom fod y cymunedau o facteria a geir ar ddail rhygwellt, er enghraifft, yn wahanol i'r rhai sy'n cytrefu ar goesau'r un planhigyn (Ffig. 6). Rydym hefyd yn gwybod bod gwahaniaeth yn yr amrywiaeth a'r dwysedd o facteria sydd ynghlwm wrth ochrau uchaf (allechelinel) ac isaf (adechelinel) y ddeilen, gyda mwy o facteria yn cydio ar yr ochr adechelinel (data heb eu cyhoeddi eto). Dangoswyd hefyd bod gwahaniaeth yn y tacsa o facteria ynghlwm i borthiant o wahanol fathau (e.e. meillion coch o'u cymharu â rhygwellt) (Ffig. 7; Huws et al., 2010). Bellach mae trwch o ddata yn disgrifio effaith y planhigyn ar amrywiaeth a nifer y micro-organebau sydd ynghlwm wrth y planhigion ond y sialens bellach yw symud

Ffigwr 6: Dendogram UPGMA ('Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean') yn seiliedig ar dechneg DGGE ('Denaturing Gradient Gel Electrophoresis') yn dangos amrywiaeth 16S rDNA ynghlwm wrth ddail a choesau rhygwellt ffres dros amser ar ôl deor yn rwmn gwartheg llaeth. Rhifau ar ôl pob proffil yn dangos amser ar ôl deor yn y rwmn. Graddfa yn ymwneud â chanran tebygrwydd.



Ffigwr 7: Dendogram UPGMA yn seiliedig ar dechneg DGGE yn dangos amrywiaeth 16S rDNA ynghlwm wrth silwair o rygwellt a meillion coch ar ôl dwy awr wedi iddo ddeor yn rwmn gwartheg llaeth. Rhifau ar ôl pob proffil yn dangos amser ar ôl deor yn y rwmn. Graddfa yn ymwneud â chanran tebygrwydd.

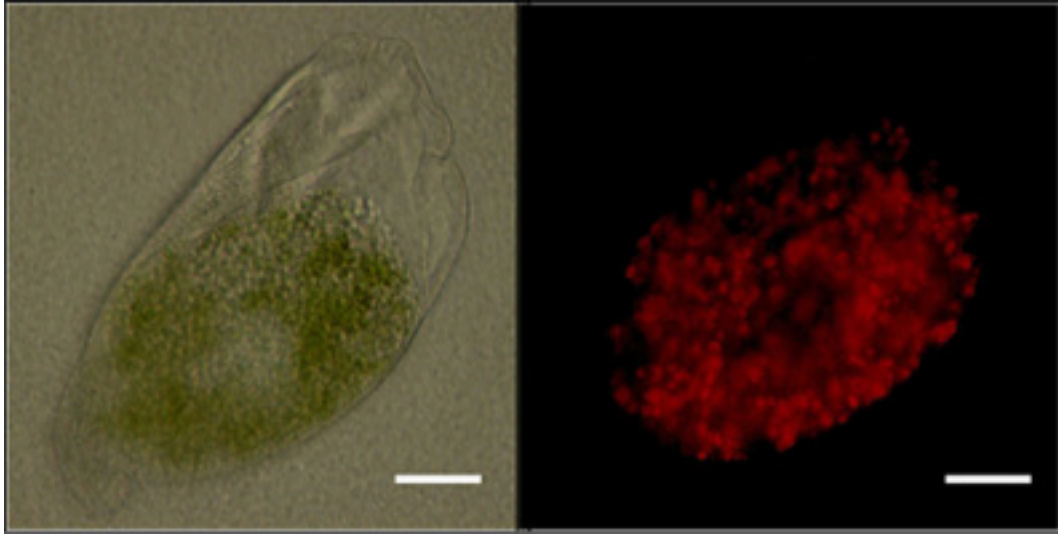


ymlaen o 'gasglu stampiau'. Mae angen deall gweithgaredd y micro-organebau hyn, ynghyd â'u swyddogaethau yn y prosesau sy'n arwain at ddiraddiad y planhigyn. Fel ym mhob cynefin biolegol, mae elfen o orgyffwrdd rhwng y bacteria sy'n bresennol ac felly nid yw amrywiaeth gwahanol o reidrwydd yn arwydd o weithgaredd gwahanol. Yn ddiweddar dechreuwyd defnyddio technoleg metatranscriptomeg i astudio newidiadau yng ngweithgaredd y bacteria sydd ynghlwm wrth y porthiant dros amser (Edwards et al., 2012).

Rhyngweithiadau protistiaid a chloroplastau a'u heffaith ar y defnydd o nitrogen yr anifail ac ansawdd y cynnyrch terfynol

Er pwysigrwydd rhywogaeth y planhigyn i'r amrywiaeth o rywogaethau o ficro-organebau sy'n cydio wrth y porthiant, gan mai'r cloroplastau (sef organynnau ffotosynthetig y planhigyn) yn y porthiant sy'n llawn o faetholion gan gynnwys proteinau a PUFA (tua 60 y cant o gynnwys y planhigyn yn ei gyfanrwydd) (Huws et al., 2009; 2012), eu tynged hwy sy'n bwysig i dwf yr anifail ac ansawdd y cynnyrch.

Derbyn y protistiaid yn y rwmn eu maeth yn bennaf trwy lyncu a diraddio bacteria o fewn ffagolysosomau mewngellol. Mae protistiaid y rwmn yn wahanol i'r bacteria gan eu bod yn ffynhonnell o asidau brasterog amlannirlawn a monoannirlawn (Emmanuel, 1974; Devillard et al., 2006). Tan yn ddiweddar nid oedd y rheswm am hyn yn eglur. Am fod protistiaid yn bwyta bacteria yn bennaf roedd hyn yn anarferol, ond yn ddiweddar canfuwyd fod rhai protistiaid, yn enwedig aelodau o'r genws *Epidinia*, yn lyncu nifer uchel o gloroplastau, a'u bod yn aml yn llawn ohonynt (Ffig. 8; Huws et al., 2009; 2012). Felly mae'n debygol taw gallu'r protistiaid i lyncu cloroplastau sy'n eu gwneud yn ffynhonnell o faetholion.



Figwr 8: Genws *Epidinia* yn llawn o gloroplastau o dan olau (A) ac yn awto-fflwroleuol o dan olau fflwroleuol (B). Graddfa 20 μ m.

Mae'r gallu i gynyddu cloroplastau mewngellol gan y protistiaid yn rhoi cyfle i fanteisio ar hyn, a gwella ansawdd y maetholion sy'n cyrraedd y dwodenwm trwy gynyddu llif y protistiaid. Yn sgil asesu'r cyfle hwn, yn fwy diweddar astudiwyd cyfraniad protistiaid oedd yn cynnwys nifer sylweddol o gloroplastau mewngellol o'u cymharu â phrotistiaid yn cynnwys llai o gloroplastau mewngellol. Defnyddiwyd gwartheg wedi eu bwydo ar rygwellt ffres er mwyn cynyddu nifer y cloroplastau mewngellol i gymharu ar ddeiet o wellt a dwysfwyd (60:40) i gyflawni protistiaid gyda llai o gloroplastau mewngellol ar lif protein a PUFA i'r dwodenwm (Huws *et al.*, 2012). Dangoswyd cynnydd yn nifer y cloroplastau yn y protistiaid yn yr arbrawf hwn trwy fwydo rhygwellt ffres, ond ni welwyd gwelliant yn llif y protein a PUFA i'r dwodenwm. Ymddengys nad yw protistiaid yn llifo'n dda i'r dwodenwm ar y deiet hwn (Huws *et al.*, 2012). Un rheswm am hyn yw bod rhygwellt ffres yn cynnwys tipyn o siwgr sy'n denu protistiaid ac mae hyn yn creu'r potensial i'w cadw yn y rwmn. Gwyddom fod protistiaid yn ffynhonnell o brotein a PUFA i'r anifail ond yr her bellach yw sicrhau llif digonol ohonynt i'r dwodenwm er mwyn sicrhau gwelliant yn nhwrf yr anifail, yn ogystal â sicrhau niferoedd cynaliadwy o brotistiaid yn y rwmn. Rhaid hefyd fagu dealltwriaeth ddyfnach o'r rhyngweithiadau rhwng y protistiaid a'r cloroplast. Ni wyddys pam mae protistiaid yn llyncu cloroplastau, na chwaith beth a ddigwydd i'r cloroplastau hynny wedi iddynt gael eu llyncu. Er hynny, gwelir potensial cymryd mantais o brotistiaid fel ffynhonnell o brotein a PUFA yng ngyd-destun datblygu technoleg newydd.

Nid yw'r planhigyn yn anadweithiol yn y rwmn

Ynghyd â deall pwysigrwydd micro-organebau'r rwmn, mae hefyd yn bwysig ystyried metaboledd y planhigyn ei hun wrth iddo gael ei llyncu a'i ddiraddio yn y rwmn. Hyd yn gymharol ddiweddar, credid bod y planhigyn yn marw yn sydyn wedi iddo gyrraedd y rwmn. Fodd bynnag, awgryma tystiolaeth ddiweddarach fod rhai prosesau yn medru parhau am hyd at chwe awr heb ocsigen na golau (Kingston-Smith *et al.*, 2008). Dengys gwaith ymchwil diweddar fod y planhigyn, yn hytrach, yn marw mewn ffordd raddol a

threfnus, trwy ddull a elwir yn Farwolaeth Cell Raglunedig (*Programmed Cell Death; PCD*). Gwelir tebygrwydd yn y broses hon i'r hyn a ddigwydd tanddwr, lle ceir hefyd ddiffyg ocsigen (Zhu et al., 1999; Beha et al., 2002; Kingston-Smith et al., 2003; Kingston-Smith et al., 2008). Yn ystod PCD, celloedd sy'n cynnwys y protein RuBisCO yn y cloroplast sy'n cael eu diraddio gan y planhigyn ei hun (Kingston-Smith et al., 2008). Golyga hyn nad yw'r proteinau sydd ar gael i'r microbau bob amser yr un peth â'r rhai oedd yn y ddeilen iach. Mae deall y llwybrau metaboledd yn y planhigyn, yn enwedig yn y cloroplast wrth i'r planhigyn farw, yn bwysig, nid yn unig yng nghyd-destun tynged y proteinau, ond hefyd y lipidau.

Bioleg Systemau Rwmen

Mae'r rwmen yn system gymhleth nad ydym eto yn ei llwyr ddeall, yn sicr nid ar y lefel o fanylder sydd ei hangen i wynebu'r heriau o'n blaenau. Yn sgil datblygiadau'r dilynianwyr ail genhedlaeth, mae'n hawdd casglu data ynglŷn â genomau a mynegiant genynnau o fewn y rwmen, gan hwyluso'r broses o ddeall swyddogaethau a rhyngweithiadau microbau'r rwmen mewn ffordd nad oedd modd ei rhagweld hyd yn oed ddegawd yn ôl. Yn sgil y datblygiadau hyn, pwysleisir pwysigrwydd deall ecosystemau fel systemau yn eu cyfanrwydd gan ddefnyddio syniadaeth bioleg systemau (Park et al., 2008; Kell, 2010). Diffiniad y term 'bioleg systemau' yw ymchwiliadau rhyngddisgyblaethol er mwyn deall y rhyngweithiadau cymhleth o fewn systemau biolegol gan ddefnyddio ymagwedd gyfannol yn hytrach nag ymagwedd leihaol i ymchwil fiolegol. Mae'n bwysig nodi, serch hynny, nad yw'r syniad o astudio nifer o elfennau o ecosystem (bioleg systemau) yn newydd gan fod ecolegwyr yn gwneud hyn cyn y cyfnod molecwlar. Y gwahaniaeth yn awr yw ein gallu i astudio mewn dyfnder elfennau o'r system ar lefel y gennyn, protein a metabolom oherwydd y datblygiadau technolegol diweddar.

Gwyddom pan fo cilgnowyr yn bwyta rhygwelft ffres sy'n cynnwys mwy o siwgr fod eplesiad metabolaidd yn cyflymu, ac o ganlyniad gwellir twf yr anifail o'i gymharu â bwydo rhygwelft ac ynddo lai o siwgr (Miller et al., 2001; Lee et al., 2002; Moorby et al., 2006); mae'r allyriadau methan hefyd yn llai (Kim et al., 2011b). Ni wyddom mewn unrhyw fanylder y rhesymau, nac ar lefel fwy sylfaenol, y llwybrau metabolaidd sy'n cael eu dilyn gan y micro-organebau yn sgil bwydo â rhygwelft sy'n cynnwys lefelau uwch o siwgr o'i gymharu â chyltifarau o rygwelft gyda llai o gynnwys siwgr. Trwy ddefnyddio technoleg metagenomeg, metatranscriptomeg, metaproteomeg, a metabolomeg i ddisgrifio'r berthynas rhwng y planhigyn a'r micro-organebau yn y rwmen, gallwn adeiladu model i ddisgrifio ac i ddeall y perthnasau rhwng y micro-organebau mewn cyltifarau o rygwelft sy'n gwahaniaethu yn eu cynnwys o siwgr.

Casgliadau

Erys nifer o heriau o'n blaenau i sicrhau argaeledd cynnyrch cilgnowyr sy'n iach a heb fod yn andwyol i'r amgylchedd. Nid oes, eto, ateb penodol i'r her hon, a bydd yn rhaid ceisio creu polisiau i gyfyngu'r defnydd o gynnyrch cilgnowyr yn neiet y boblogaeth fyd-eang, edrych ar y posibilrwydd o newid rhai arferion ffermio a gwneud y gorau o'r arbenigedd gwyddonol sydd gennym i ddatblygu strategaethau newydd. Trwy gynyddu ein dealltwriaeth o'r rwmen ar nifer o lefelau 'omeg', gobeithir y meddir mynd

i'r afael â gweithgareddau micro-organebau'r rwmen a'r porthiant er mwyn datblygu effeithlonrwydd ecosystem y rwmen.

Diolchiadau

Mae Sharon Huws yn cael ei hariannu gan y Coleg Cymraeg Cenedlaethol, Cyngor Ymchwil Biotechnoleg a Gwyddorau Biolegol (BBSRC), y Comisiwn Ewropeaidd (*FOOD-CT-2006-36241 - Prosafebeef*) a gan Lywodraeth Cymru (*HE 11 ADP 1001 – LADP* prosiect 'Green odour'). Dymuna Sharon Huws ddiolch hefyd i Hybu Cig Cymru am eu cyfraniad i'r gwaith diweddar ar lipolysis.

Llyfryddiaeth

Arpigny, J. L. a Jaeger, K. E. (1999), 'Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties', *Biochemistry Journal*, 343, tt. 177-83.

Asner, G. P., Elmorre, A. J., Olander, L. P., Martin, R. E. a Harris, A. T. (2004), 'Grazing systems, ecosystem responses and global change', *Annual Review of Environment and Resources*, 29, tt. 261-99.

Beha, E. M., Theodorou, M. K. a Kingston-Smith, A. H. (2002), 'Grass cells ingested by ruminants undergo autolysis which differs from senescence: implications for grass breeding targets and livestock production', *Plant, Cell and Environment*, 25, tt. 1299-312.

Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Fievez, V., Maignien, L., Dijkstra, J. a Boon, N. (2008), 'Accumulation of *trans* C18:1 fatty acids in the rumen after dietary algal supplementation is associated with changes in the *Butyrivibrio* population', *Applied and Environmental Microbiology*, 74, tt. 6923-30.

Bouwman, L., Goldewijk, K. K., Van Der Hoek, K. W., Beusen, A. H. W., Van Vuuren, D. P., Willems, J., Rufino, M. C. a Stehfest, E. (2011), 'Exploring global changes in nitrogen and phosphorus cycles in agriculture induced by livestock production over the 1900-2050 period', *Proceeding of the National Academy of Sciences doi:10.1073/pnas.1012878108*.

Broudicou, L. a Jouany, J. P. (1995), 'Reassessing the manipulation of protein synthesis by rumen microbes', *Reproduction, Nutrition, Development*, 35, tt. 517-35.

Brulc, J. M., Antonopoulos, D. A., Berg Miller, M. E., Wilson, M. K., Yannarell, A. C., Dinsdale, E. A., Edwards, R. E., Frank, E. D., Emerson, J. B., Wacklin, P., Coutinho, P. M., Henrissat, B., Nelson, K. E. a White, B. A. (2009), 'Gene-centric metagenomics of fiber-adherent bovine rumen microbiom reveals forage specific glycoside hydrolases', *Proceedings of the National Academy of Science*, 106, tt. 1948-53.

Coleman, A. G. a Williams, G. S. (1992), *The Rumen Protozoa* (Efrog Newydd: Springer-Verlag).

Costerton, J. W., Stewart, P. S. a Greenberg, E. P. (1999), 'Bacterial biofilms: A common cause for persistent infections', *Science*, 10, tt. 135-43.

Davis, K. E., Joseph, S. J. a Janssen, P. H. (2005), 'Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 71, tt. 826-34.

- Devillard, E., McIntosh, F. M., Newbold C. J. a Wallace, R. J. (2006), 'Rumen ciliate protozoa contain high concentrations of conjugated linoleic acids and vaccenic acid, yet do not hydrogenate linoleic acid or desaturate stearic acid', *British Journal of Nutrition*, 96, tt. 697-704.
- Dewhurst, R. J., Davies, D. R. a Merry, R. J. (2000), 'Microbial protein supply in the rumen', *Animal Feed Science and Technology*, 85, tt. 1-21.
- Dewhurst, R. J., Scollan, N. D., Lee, M. R. F., Ougham, H. J. a Humphreys, M. O. (2003), 'Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products', *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, tt. 329-36.
- Edwards, J. E., Huws, S. A., Swarbreck, D., Rees Stevens, P., Febrer, M., Alston, M., Pachebat, J., a Kingston-Smith, A. H. (2012), 'Investigation of a rumen bacterial "functional core" utilising a metatranscriptomics approach', RRI-INRA Gut Microbiology: Gut microbiota: friend or foe? 8th Biennial Meeting, Clermont Ferrand.
- Edwards, A. H., Kingston-Smith, A. H., Jiminez, H. R., Huws, S. A., Skot, K.P., Griffith, G. W., McEwan, N. R. a Theodorou, M. K. (2008a), 'Dynamics of initial colonisation of non-conserved perennial ryegrass by anaerobic fungi in the bovine rumen', *FEMS Microbiology Ecology*, 66, tt. 537-45.
- Edwards, J. A., Huws, S. A., Kim, E. J., Lee, M. R. F., Kingston-Smith, A. H. a Scollan, N. D. (2008b), 'Advances in microbial ecosystem concepts and their consequences for ruminant agriculture', *Animal*, 2, tt. 653-60.
- Edwards, J. E., Huws, S. A., Kim, E. J. a Kingston-Smith, A. H. (2007), 'Characterisation of the dynamics of initial bacterial colonisation of nonconserved forage in the bovine rumen', *FEMS Microbiology Ecology*, 62, tt. 323-35.
- Edwards, J. E., McEwan, N. R., Travis, A. J. a Wallace, R. J. (2004), '16S rDNA library-based analysis of ruminal bacterial diversity', *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, tt. 263-81.
- Emmanuel B (1974), 'On the origin of rumen protozoan fatty acids', *Biochimica Biophysica Acta*, 337, tt. 404-13.
- FAO (2006), *Livestock's Long Shadow. Environmental Issues and Options*, FAO, Rhufain. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a0701e/A0701E00.pdf>
- FAOSTAT (2009), <http://faostat.fao.org/>
- Ferrer, M., Golyshina, O. V., Chernikova, T. N., Khachane, A. N., Reyes-Duarte, D., Santos, V. A., Strompl, C., Elborough, K., Jarvis, G., Neef, A., Yakimov, M. M., Timmis, K. N. a Golyshin, P. N. (2005), 'Novel hydrolase diversity retrieved from a metagenome library of bovine rumen microflora', *Environmental Microbiology*, 7, tt. 1996-2010.
- Flemming, H. K a Wingender, J. (2010), 'The Biofilm Matrix', *Nature Reviews*, 8, tt. 623-33.
- Foresight (2011), *The Future of Food and Farming: Challenges and choices for global sustainability*, Adroddiad Llywodraeth Prydain.
- Gill, M., Smith, P. a Wilkinson, J. M. (2010), 'Mitigating climate change: the role of domestic livestock', *Animal*, 4, tt. 323-33.

- Griinari, J. M. A. a Bauman, D. E. (1999), 'Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants', yn Yurawecz, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K., Pariza, J. K. G., M. W. a Nelson, G. J. (goln.), *Advances in conjugated linoleic acid research* 1, tt. 180-200.
- Harfoot, C.G. a Hazlewood, G.P. (1997), 'Lipid metabolism in the rumen' yn Hobson P.N. a Stewart C.S., (goln.), *The Rumen Microbial Ecosystem*, tt. 382-426 (Llundain: Chapman & Hall).
- Hasan, F., Shah, A. A. a Hameed, A. (2006), 'Industrial applications of microbial lipases', *Enzyme and Microbial Technology*, 39, tt. 235-51.
- Hess, M., Sczybra, A., Egan, R., Kim, T. W., Chokhawala, H., Schroth, G., Luo, S., Clark, D. S., Cheng, F., Zhang, T., Mackie, R. I., Pennacchio, L. A., Tringe, S. G., Visel, A., Woyke, T., Wang, Z. a Rubin, E. M. (2011), 'Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen', *Science*, 331, tt. 463-7.
- Hobson, P. N. a Mann, S. O. (1961), 'The isolation of glycerol fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep', *Journal of General Microbiology*, 25, tt. 227-40.
- Hobson, P. N. a Stewart, C. S. (1997), *The Rumen Microbial Ecosystem* (Llundain: Chapman a Hall).
- Hungate, R. E. (1966), *The Rumen and its Microbes* (Efrog Newydd: Academic Press).
- Huws, S. A., Lee, M. R. F., Kingston-Smith, A. H., Kim, E. J., Scott, M. B., Tweed, J. a Scollan, N. D. (2012), 'Ruminal protozoal contribution to the flow of fatty acids following feeding of steers on forages differing in their chloroplast content', *British Journal of Nutrition*, 1, tt. 1-8.
- Huws, S. A., Kim E. J., Lee, M. R. F., Pinloche, E., Wallace, R. J. a Scollan, N. D. (2011), 'As yet uncultured bacteria phylogenetically classified as Prevotella, Lachnospiraceae incertae sedis, and unclassified Bacteroidales, Clostridiales and Ruminococcaceae may play a predominant role in ruminal biohydrogenation', *Environmental Microbiology*, 13, 1500-12.
- Huws, S. A., Lee, M. R. F., Muetzel, S. M., Scott, M. B., Wallace, R. J. a Scollan, N. D. (2010), 'Forage type and fish oil cause shifts in rumen bacterial diversity', *FEMS Microbiology Ecology*, 73, tt. 396-407.
- Huws, S. A., Kim, E. J., Kingston-Smith, A. H., Lee, M. R. F., Muetzel, S. M., Cookson, A. R., Newbold, C. J., Wallace, R. J. a Scollan, N. D. (2009), 'Rumen protozoa are rich in polyunsaturated fatty acids due to the ingestion of chloroplast', *FEMS Microbiol Ecology*, 69, tt. 461-71.
- Huws, S. A., Mayorga, O.L., Theodorou, M.K., Kim, E. J., Newbold C.J. a Kingston-Smith, A.H. (2013) 'Successional colonisation of perennial ryegrass by rumen bacteria'. *Letters in Applied Microbiology* 56, tt 186-196.
- Janssen, P. H. a Kirs, M. (2008), 'Structure of the Archaeal community of the rumen', *Applied and Environmental Microbiology*, 74, tt. 3619-25.
- Kell, D. B. (2010), Systems microbiology, *Microbiology Today* 37, 14-15.
- Kim, E. J., Huws, S. A., Lee, M. R. F., Wood, J. D., Muetzel, S. M., Wallace, R. J. a Scollan, N. D. (2008), 'Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and *trans*-11 18:1 and decreases 18:0 in steers *via* changes in the rumen bacterial community', *Journal of Nutrition*, 138, tt. 889-96.

- Kim, M., Morrison, M. a Zhu, Z. (2011a), 'Phylogenetic diversity of bacterial communities in bovine rumen as affected by diets and microenvironments', *Folia Microbiologica (Praha)*, 56, tt. 453-8.
- Kim, E. J., Newbold C. J. a Scollan, N. D. (2011b), 'Effect of water-soluble carbohydrate in fresh forage on growth and methane production by growing lambs', yn *8th International Symposium on the Nutrition of Herbivores*, t. 30 (Caergrawnt: Gwasg y Brifysgol).
- Kingston-Smith, A. H., Edwards, J. E., Huws, S. A., Kim, E. J. ac Abberton, M. (2010), 'Plant-based strategies towards minimising 'livestock's long shadow', *Proceedings of the Nutrition Society*, 69, 613-20.
- Kingston-Smith, A. H., Davies, T. E., Edwards, J. E. a Theodorou, M. K. (2008), 'From plants to animals; the role of plant cell death in ruminant herbivores', *Journal of Experimental Botany*, 59, tt. 521-32.
- Kingston-Smith, A. H., Bollard, A., Armstead, I. P., Thomas, B. J. a Theodorou, M. K. (2003), 'Proteolysis and cell death in clover leaves is induced by grazing', *Protoplasma*, 220, tt. 119-29.
- Kopečný, J., Zorec, M., Mrázek, J., Kobayashi, Y. a Marinšek-Logar, R. (2003), '*Butyrivibrio hungatei* sp nov and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* sp nov., butyrate-producing bacteria from the rumen', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, tt. 201-9.
- Lee, M. R. F., Harris, L. J., Moorby, J. M., Humphreys, M. O., Theodorou, M. K., MacRae, J. C. a Scollan, N. D. (2002), 'Rumen metabolism and nitrogen flow to the small intestine in steers offered *Lolium perenne* containing different levels of water-soluble carbohydrate', *Animal Science*, 74, tt. 587-96.
- Li, L. L., McCorkle, S. R., Monchy, S., Taghavi, S. a van der Lelie, D. (2009), 'Bioprospecting metagenomes: glycosyl hydrolases for converting biomass', *Biotechnology for Biofuels*, 2, tt. 10-20.
- Liu, K., Wang, J., Bu, D., Zhao, S., McSweeney, C., Yu, P. a Li, D. (2009), 'Isolation and biochemical characterization of two lipases from a metagenomic library of China Holstein cow rumen', *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 385, tt. 605-11.
- Lock, A. L. a Bauman, D. E. (2004), 'Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health', *Lipids*, 39, tt. 1197-206.
- Lourenco, M. Ramos-Morales, E. a Wallace, R. J. (2010), 'The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation', *Animal*, 4, tt. 1008-23.
- Mackie, R. I. a White, B. A. (1997), *Gastrointestinal Ecosystems and Fermentations* (Llundain: Chapman a Hall).
- MacRae, J. C., Campbell, D. R. ac Eadie, J. (1975), 'Changes in the biochemical composition of herbage upon freezing and thawing', *The Journal of Agricultural Research* 84, tt. 125-31.
- Månsson, H. L. (2008), 'Fatty acids in bovine milk fat', *Food and Nutrition Research*, 52, tt. 3402-4.
- Martin, C., Morgavi, D. P. a Doreau, M. (2010), 'Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale', *Animal*, 4, tt. 351-65.

- McAllister, T. A., Bae, H. D., Jones, G. A. a Cheng, K. J. (1994), 'Microbial attachment and feed digestion in the rumen'. *Journal of Animal Science*, 72, tt. 3004-18.
- McMichael, A. J., Powles, J. W., Butler, C. D. a Uauy, R. (2007), 'Food, livestock production, energy, climate change, and health', *Lancet*, 370, tt. 1253-63.
- Miller, L. A., Moorby, J. M., Davies, D. R., Humphreys, M. O., Scollan, N. D., MacRae, J. C. a Theodorou, M. K. (2001), 'Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne*): Milk production from late-lactation dairy cows', *Grass and Forage Science*, 56, tt. 383-94.
- Moon, C. D., Pacheco, D. M., Kelly, W. J., Leahy, S. C., Li, D., Kopečný, J., a Attwood, G.T. (2008), 'Reclassification of *Clostridium proteoclasticum* as *Butyrivibrio proteoclasticus* comb. nov., a butyrate-producing ruminal bacterium', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, tt. 2041-5.
- Moorby, J. M., Evans, R. T, Scollan, N. D., MacRae, J. C. a Theodorou, M. K. (2006), 'Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Evaluation in dairy cows in early lactation', *Grass and Forage Science*, 61, tt. 52-9.
- Mullis, K. B. (1990), 'Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction', *Annales de Biologie Clinique*, 48, tt. 579-82.
- Neuman, C. G., Bwibo, N. O., Murphy, S. P., Sigman, M., Whaley, S., Allen, L. H., Guthrie, D., Weiss, R. E. a Demment, M. W. (2003), 'Animal source foods improve dietary quality, micronutrient status, growth and cognitive function in Kenyan school children: background, study design and baseline findings', *Journal of Nutrition*, 133, 3941S-3949S.
- Ozkose E., Thomas, B. J., Davies, D. R., Griffith, G. W. a Theodorou, M. K. (2001), 'Cyllamyces aberensis gen. Nov sp. Nov, a New anaerobic gut fungus with branched sporangiophores isolated from cattle', *Canadian Journal of Botany*, 79, tt. 666-73.
- Paillard, D., McKain, N., Chaudhary, L.C., Walker, N.D., Pizette, F., Koppova, I., McEwan, N.R., Kopečný, J. a Vercoe, P.E. (2007), 'Relation between phylogenetic position, lipid metabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-like bacteria from the rumen', *Antonie Van Leeuwenhoek*, 91, tt. 417-22.
- Park, J.H., Lee, S.Y., Kim, T.Y. a Kim, H.U. (2008), 'Application of systems biology for bioprocess development. 'Trends in Biotechnology', 26, tt. 404-12.
- Privé, F., Huws, S. A., Scollan, N. D., Golyshina, O. V., Golyshin, P., a Newbold, C. J. (2011a), 'Genomic analysis of *Anaerovibrio lipolytica* 5S, a rumen lipolytic bacteria', Symposia rhyngwladol ar 'Herbivore Nutrition', Y Deyrnas Unedig.
- Privé, F., Huws, S. A., Scollan, N. D., Golyshina, O. V., Golyshin, P., Newbold, C. J. (2011b), 'Novel lipolytic activity isolated from bovine rumen bacteria metagenomic libraries', Symposia rhyngwladol ar 'Herbivore Nutrition', Y Deyrnas Unedig.
- Qi, M., Wang, P., O'Toole, N., Barboza, P. S., Ungerfeld, E., Leigh, M. B., Selinger, L. B., Butler, G., Tsang, A., McAllister, T. A. a Forster, R. J. (2011), 'Snapshot of the eukaryotic gene expression in muskoxen rumen – a metatranscriptomic approach', *PLOS One*, 6, e20521.

Ribeiro, B. D., De Castro, A. M., Coelho, M. A. Z. a Freire, M. G. (2011), 'Production of lipases in bioenergy: A review from the feedstocks to biodiesel production', *Enzyme Research*, 615803.

Ricard, G., McEwan, N. R., Dutilh, B. E., Jopuany, J. P., Macheboeuf, D., Mitsumori, M., McIntosh, F. M., Michalowski, T., Nagamine, T., Nelson, N., Newbold, C. J., Nsabimana, E., Takenaka, A., Thomas, N. A., Ushida, K., Hackstein, J. H. a Huyen, M. A. (2006), 'Horizontal gene transfer from bacteria to rumen ciliates indicates adaptation to their anaerobic, carbohydrate-rich environment', *BMC Genomics*, 7, tt. 22.

Schuster, S. C. (2008), 'Next-generation sequencing transforms today's biology', *Nature Methods*, 5, tt. 16-18.

Scollan, N. D., Greenwood, P. L., Newbold, C. J., Yáñez Ruiz, D. R., Shingfield, K. J., Wallace, R. J. a Hocquette, J. F. (2011), 'Future research priorities for animal production in a changing world', *Animal Production Science*, 51, tt. 1-5.

Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I. a Moloney, A. (2006), 'Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality', *Meat Science*, 74, tt. 17-33.

van de Vossenberg, J. a Joblin, K.N. (2003), 'Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen', *Letters in Applied Microbiology*, 37, tt. 424-8.

Wallace, R. J., Chaudhary, L. C., McKain, N., McEwan, N. R., Richardson, A. J., Vercoe, P. E., Walker, N. D. a Paillard, D. (2006), '*Clostridium proteoclasticum*: a ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid', *FEMS Microbiology Letters*, 265, tt. 195-201.

Zhu, W-Y., Kingston-Smith, A. H., Troncosos, D., Merry, R. J., Davies, D. R., Pichard, G., Thomas, H. a Thodorou, M. K. (1999), 'Evidence of a role for plant proteases in the degradation of herbage proteins in the rumen of grazing cattle', *Journal of Dairy Science*, 82, tt. 2651-8.