

Research Article

사료급여방법에 따른 홀스타인 거세우의 섭취 건물 당 메탄발생량

Bharanidharan Rajaraman², 우양원¹, 이창현², 나영준³, 김도형⁴, 김경훈^{1,2*}

¹서울대학교 국제농업기술대학원

²서울대학교 그린바이오과학기술연구원

³건국대학교 동물자원학과

⁴경북도립대학교 축산학과

Effect of Feeding Method on Methane Production per Dry Matter Intake in Holstein Steers

Bharanidharan Rajaraman², Yang Won Woo¹, Chang Hyun Lee², Youngjun Na³, Do Hyung Kim⁴, Kyoung Hoon Kim^{1,2*}

¹Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University, Pyeongchang, Korea

²Institute of Green Bio Science & Technology, Seoul National University, Pyeongchang Korea.

³Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul, Korea

⁴Department of Animal Science, Gyeongbuk Provincial College, Yecheon, Korea.

ABSTRACT

Limited researches are available to demonstrate the effect of TMR (Total Mixed Ration) and SF (Separate feeding) system on ruminal methane production. Two experiments were performed at two different levels of daily feed intake (1.8 and 2.4% of BW) to investigate methane production by using a triplicated 2×2 Latin square design. Each experiment was conducted using six Holstein steers. Animals were provided either TMR or SF containing 73% concentrate and 27% forage, with the same ration of same ingredients. No differences in daily methane productions (MP) and per dry matter intake (DMI) were observed in both experiments. Relationship for daily methane production on DMI was $MP (g/d) = 11.5(\pm 1.3) \times DMI (kg/d) + 14.2$, $R_2 = 0.73$, $p < 0.001$.

(Key words : Holsteins steers, Methane production, Separate feeding, TMR)

I. 서론

우리나라 온실가스 장내발효 부문 메탄 배출량 통계(GIR, 2017)에 의하면 한·육우가 66.3%, 젖소가 25.3%로 전체 배출량의 91.6%를 점하고 있다. 현재 장내발효 메탄배출량 산정은 Tier 1 방법(IPCC, 2006)을 이용하기 때문에, 한·육우는 메탄배출계수 47(kg/두/년)을 이용하고 있고, 젖소는 118을 사용하였다. 농림부는 2019년까지 Tier 2 방법을 적용하기 위해 국가 고유의 메탄배출계수 개발을 목표로 하고 있지만, 현재까지 보고된 장내발효 메탄배출계수 국내 연구결과는 주로 한우를 대상으로 하고 있고, 젖소는 수용가능한 호흡챔버 시설이 없기 때문에 수행되지 못하였다. 육우는 90~130천두로 한우의 약 5%로 매우 적은 비율이지만, 육우는 한우보다 비

육기간이 짧고 증체 목표가 높으며 권장 건물섭취량이 2~3kg 높기 때문에 Tier 2 방법 적용을 위한 육우 메탄배출계수 개발 연구도 수행되어야 한다고 판단한다.

육우의 메탄배출계수를 찾아볼 수 있는 국내 논문은 평균 체중 203kg(Lee et al., 2016)과 540kg(Bharanidharan et al., 2018)에서 수행되었다. 두 실험 모두, 우리나라의 비육우 농가 약 80%가 이용하는 농후사료와 조사료의 분리급여 방식과 약 20% 농가가 활용하는 TMR 조건에서 메탄배출량을 비교하였고, 전자는 유의적 차이가 없었으나, 후자는 분리급여가 약 12%의 낮은 유의적인 차이를 보여주었다. 메탄배출계수는 두 논문이 각각 평균 21.4와 32.9로 Tier 1의 한·육우 메탄배출계수 47(IPCC, 2006)과 큰 차이가 있었다. 분리급여 방식으로 체중 462kg의 육우에게 시판 농후사료를 급여한 실험 결과는 메탄배출계수 58(Woo et al., 2017)을 보고하는 등, 국

* Corresponding author : Kyoung Hoon Kim, Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University, Pyeongchang 25354, Korea, Tel: +82-33-339-5726, Fax: +82-33-339-5763, E-mail: khkim@snu.ac.kr

내 연구결과의 차이가 크기 때문에 국가 고유의 메탄배출계수 등록을 위해서는 보다 많은 연구결과의 축적이 요구된다. 따라서 본 연구는 분리급여와 TMR 급여가 메탄배출량에 미치는 효과를 건물 섭취 수준이 다른 조건에서 수행하였고, 또한 현재까지 보고된 국내 연구와 본 연구에서 얻어진 개체 별 1일 건물섭취량과 1일 메탄발생량과의 관계를 분석하였다.

II. 재료 및 방법

본 실험의 수행방법 대부분은 Bharanidharan et al (2018)과 동일하게 수행하였기 때문에 주요 내용만 간단히 기술하면 다음과 같다. 분리급여 및 TMR 시험사료의 원료구성과 영양성분은 Table 1과 같이 동일하였고, 농후사료와 조사료의 비율도 원물기준으로 73 : 27로 동일하였다. TMR 사료는 25kg 포장의 시판 사료를 구매 이용하였고, 분리급여를 위해 동일 회사에게

농후사료와 조사료 원료의 혼합을 각각 해줄 것을 의뢰하였다. 육우 6두(평균 체중 396.8±148kg)를 공시하여 개체별 체중 기준 1.8%의 사료급여 (원물 기준)조건에서 두 사료급여 방식의 비교 실험(실험 1)이 끝난 후에 개체별 체중 기준 2.4%를 급여하는 실험 2를 수행하였다. 공시축은 체중이 비슷한 3두씩 2개의 우방에 배치하여 평균 12일간의 시험사료 적응을 하였고 3두씩 3기의 호흡챔버(indirect open-circuit whole body respiratory chamber)에 6일간 수용하여 마지막 2일간 메탄발생량을 측정하는 평균 18일간의 실험을 각각 수행하였다. 즉, 메탄발생량 측정을 마친 3두는 우방으로 돌아와서 사료급여방식을 바꾸어 적응을 시작하는 방식의 triplicated 2×2 design으로 실험을 수행하였다. 공시축은 우방에서부터 개체 인식 자동 개폐 장치에 의해 설정된 사료량만 섭취하도록 하였고, 개체별 건물섭취량은 호흡챔버에 수용된 기간 중 마지막 4일간의 결과를 이용하였다. 시험사료는 1일 2회(오전 9시와 오후 6시) 균등 분할 급여하였고 시험기간 동안 미네랄블럭과 물은 자유 섭취하였다. 분리급

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet used in the experiment

Ingredient composition (g/kg fed basis)		Chemical composition ¹	
Concentrate		DM (g/kg fed basis)	900
Corn gluten feed	230	OM	792
Wheat bran	10	CP	166
Coconut meal	135	EE	44
Broken corn	56	Ash	120
Steam flaked corn	24	aNDFom ³	287
Cotton hull pellet	118	GE, Mcal/kg DM	3.9
Water	20		
Whole cotton seed	40		
Yeast culture	30		
Limestone	10		
Salt	2		
Molasses	50		
Mineral-vitamin mixture ²	5		
Roughage			
Alfalfa hay	50		
Perennial rye grass	100		
Annual rye grass	100		
Klein grass	20		

OM, Organic matter; CP, Crude protein; EE, Ether Extract; GE, Gross energy.

¹ Unless indicated otherwise, units are expressed as g/kg of DM.

² The mineral-vitamin mixture includes vitamin A: 2,650,000 IU; vitamin D3: 530,000 IU; vitamin E: 1,050 IU; nicotinic acid: 10,000 mg; Fe: 13,200 mg; Mn: 4,400 mg; Zn: 4,400 mg; Copper: 2,200 mg; Iodine: 440 mg; Cobalt: 440 mg.

³ Neutral detergent fibre assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

여에서는 조사료를 먼저 급여하고 40분 후에 농후사료를 급여 하였다. 호흡챔버(폭 137× 길이 256× 높이 200cm)는 사료조, 물컵 그리고 온도 조절과 습기 제거 기능이 있는 공조시설 (model ALFFIZ-WBCAI-051H; Busung, India)이 설비되어 있고, 챔버 내·외의 공기 시료 메탄분석은 tuneable diode LASER CH₄ gas analyser (Airwell+7; KINSCO Technology, Korea)를 사용하였다. 챔버 내 공기는 25℃ 그리고 습도는 50%로 유지하였고, 공기 유속을 600L/min (flow meter, model LS-3D; Teledyne Technologies, USA)로 설정하였다. 공시축이 호흡챔버에 수용되기 전과 후에 각각 메탄 표준가스(25% mol/mol; Air Korea)를 이용한 회수율을 측정 (평균 80%)하여 최종 메탄 발생량 결과 보정에 사용하였다. 각 챔버 내 공기의 메탄농도는 챔버를 떠나는 공기(outlet)의 메탄농도와 챔버로 유입되는 (inlet) 공기의 메탄조성의 차이로 구하였다. 각 챔버의 가스 분석 과정을 보면, 먼저 메탄분석기에 90초간 inlet 공기가 들어 오고 그 중의 마지막 20초간의 분석값의 평균이 저장된 후에 120초 동안 outlet 공기가 분석기로 들어온다. 마찬가지로 그 중의 마지막 20초간의 분석치들의 평균값이 저장된다. 본 실험에서는 24시간 동안 각 챔버별로 총 103회의 분석값을 얻었다.

공시축 체중은 각 실험 시작과 종료시에 측정하였고, 사료 잔량은 매일 아침 사료급여 전에 회수하여 무게를 기록하였다. 배합사료와 조사료 그리고 TMR 시료는 열풍건조기를 이용하여 60℃에서 72시간 건조한 후에 건물 함량을 계산하였고, 건조 시료를 분쇄하여 조단백질 (Method 990.03; AOAC 2007)과 회분(Method 942.05; AOAC 2007) 함량을 분석하였고, NDF와 ADF 성분 분석은 Van Soest 방법(1991)을 이용하였다. 본 연구에서 처리구별 데이터들은 SPSS v23 프로그램 (IBM corporation, NY, USA)을 이용하여 처리구는 고정효과 (fixed effect), 실험 동물과 급여 기간은 임의 효과(random

effect)로 하여 일반선형모델(GLM) 방식으로 분석하였다. 처리구 평균값 비교를 위해 95% 신뢰수준에서 검증하였다($p < 0.05$).

III. 결과 및 고찰

본 실험에서 체중의 1.8% 사료 원물섭취량(실험 1)은 체중 변화를 볼 때 육우의 유지요구량 수준으로 확인되었고 체중의 2.4% 사료 섭취량(실험 2)은 1.4kg의 일당 증체가 가능한 것으로 나타났다(Table 2). 1일 평균 메탄생산량(g/d)은 TMR 처리구가 실험 1에서는 분리급여 보다 약 20% 높았으나 통계적인 유의성은 없었고, 실험 2는 사료급여방법 간의 차이가 없었다(Table 3). 실험 1과 같이 체중의 약 2% 건물을 섭취한 이전의 실험에서(Lee et al., 2016) TMR 처리구의 육우가 약 6% 메탄생산이 많았지만 유의성은 없었고, 2.1%의 건물을 섭취하고 0.65kg의 일당 증체를 보인 육우 실험(Bharanidharan et al., 2018)은 소화율의 차이는 없지만 메탄발생량에서는 TMR 처리구가 약 14% ($p < 0.05$) 높았다. 메탄전변율(Ym, % 섭취에너지)에서도 TMR 처리구가 분리급여 보다 실험 1은 29% 그리고 실험 2는 6% 높았지만 유의적 차이는 없었다. 그러나 이전의 국내 연구 결과(Lee et al., 2016; Bharanidharan et al., 2018)는 25%(5.5 vs 4.6) 그리고 14%(4.0 vs 3.5) 유의성 있게 높은 결과를 보였다. 국외도 연구 사례는 매우 적지만 완전 TMR(O'Neill et al., 2011)과 부분 TMR(O'Neill et al., 2012)가 perennial ryegrass 방목 조건 보다 건물섭취량은 물론 유지방 또는 유단백질 생산량당 메탄발생량이 모두 높았다는 보고와 사료 원료 구성이 동일한 조건에서 TMR 급여와 분리급여간에 메탄전변율의 차이가 없었다는 보고(Holter et al.,

Table 2. Body weight, daily gain and Nutrients intake in Experiment 1 and 2

	Exp 1 (1.8%) ¹		Exp 2 (2.4%) ¹	
	Mean	SEM	Mean	SEM
Initial BW, kg	396.8	148.6	398.8	136.6
Final BW, kg	398.8	136.6	444.7	150.5
Daily gain, kg	-0.22	0.38	1.43	0.64
	Nutrient intake, kg/d			
Dry matter	6.30	1.61	9.26	2.10
Organic matter	5.54	1.42	8.14	1.85
Crude protein	1.05	0.27	1.54	0.35
Neutral detergent fiber	1.81	0.46	2.66	0.60
Gross energy, Mcal/d	24.44	6.25	35.91	8.14

¹ 1.8% and 2.4% represented feed intake level (% body weight).

Table 3. Methane productions in Experiment 1 and 2

Intake level	Item	TMR	SF	SEM	P-Value
Exp 1 (1.8%) ¹	L/day	169.9	140.1	12.78	0.127
	g/day	121.4	100.1	9.13	0.127
	g/kg DMI	20.5	17.0	2.89	0.283
	g/kg OMI	23.3	19.3	3.28	0.283
	g/kg NDFI	71.5	59.2	10.06	0.283
	Energy loss, % GEI	7.2	5.6	0.83	0.144
Exp 2 (2.4%) ¹	L/day	149.4	145.6	17.41	0.862
	g/day	106.7	104.0	12.43	0.862
	g/kg DMI	12.3	11.6	1.82	0.661
	g/kg OMI	14.0	13.2	2.09	0.654
	g/kg NDFI	42.8	40.5	6.40	0.655
	Energy loss, % GEI	4.20	3.98	0.63	0.656

¹ 1.8% and 2.4% represented feed intake level (% body weight).

TMR, total mixed ration; SF, separate feeding; DMI, dry matter intake; OMI, organic matter intake; NDFI, neutral detergent fiber intake; GEI, gross energy intake.

1977)가 있다.

관련 연구 결과가 아직 충분하지 않지만 TMR 급여가 분리 급여보다 1일 메탄배출량이 많고 메탄전변율이 높을 것으로 추정된다. 그러나 이러한 추정은 혼합 과정에서 사료편의 길이가 짧아진 TMR 급여가 반추위 통과 속도의 변화 때문에 메탄을 줄이는 사료급여전략이 될 것이라는 제안과는 상반된다. TMR 배합기를 이용해서 TMR을 만드는 과정은 분별 조사료의 절단 또는 파쇄가 동반된다. Heinrichs et al. (1999)의 조사에 의하면, 일반 목초는 19mm 이상의 것이 전체의 16~18%이었지만, TMR은 7.1%로 큰 차이가 있었다. 또한 혼합 과정에서 사료편의 길이가 27mm 이상의 것들이 반으로 짧아진다고 하였다. 이러한 결과는 본 실험과 같은 사료를 이용했던 Bharanidharan et al. (2018)의 연구에서 보고한 TMR 처리구 18.1% 그리고 분리급여 5.4% 와도 일치하고 있다. 즉 사료의 혼합과정에서 사료편의 길이가 짧아지기 때문에 반추위내에서 고상사료의 체류시간이 짧아질 것이라는 점과 메탄발생량과 반추위 통과 속도와는 역의 상관관계가 있다는 연구결과(Huhtanen et al., 2016)를 연결시켜서 나온 추론이다. 그러나 고상사료의 반추위 통과속도와 반추위액의 반전률(dilution rate)은 메탄발생량 변화 요인의 28%, 그리고 25%를 각각 설명한다고 한 Okine et al. (1989)의 논문과 TMR 메탄발생량이 더 많았다고 보고한 논문들에 따르면 TMR의 상대적으로 짧아진 사료편과 반추위 통과속도 변화만으로 분리급여와 비교하여 메탄의 증감을 설명하기에는 무리가 있어 보인다. 또 하나 주의를 해야 하는 고찰은 사료편의 길이와 전장소화율과의 관계이다.

사료편의 길이와 사료섭취량간에는 정의 상관관이 있지만, 사료섭취량이 전장소화율에 미치는 효과는 아직 명확치 않다 (Kononoff and Heinrichs, 2013a, b). TMR 급여와 분리급여의 사료편 길이 차이가 건물 및 영양소소화율에는 영향을 주지 않았다는 연구 보고 들도 많이 찾아볼 수 있고(Holter et al., 1977; Yan et al., 1998; Huuskonen et al., 2014; Bharanidharan et al., 2018), 사료편 길이 이외에 조사료 종류 그리고 조사료와 농후사료의 비율, 이들의 상호작용으로 소화율 차이가 없는 이유를 설명하고 있다(Maulfair et al., 2011)또한 소장에서의 보상 소화율(Hoover, 1978)도 중요한 이유가 될 것이다.

본 실험은 사료급여 방식 차이에 의해 메탄생성량이 유의적으로 변하지 않았지만, 기존의 국내 연구결과와 같이 TMR 급여가 분리 급여보다 메탄발생량이 높았다. 본 실험과 체중당 사료섭취량은 다르지만 동일한 사료와 동일한 처리에 의해 수행된 Bharanidharan et al. (2018)의 반추위 발효 성장과 미생물 다양성변화 조사 결과는 본 실험 결과 해석에도 필요한 여러 정보를 제공하고 있다. 분리급여의 경우, 농후사료 선택채식에 의한 반추위 pH가 평균적으로 낮아지지 않도록 하기 위해서 조사료 급여를 먼저하고 40분 후에 농후사료를 급여하였고, 반추위 pH, VFA 비율, NH₃-H의 평균 농도에서 차이가 없지만 TMR 급여에서 메탄발생량이 유의적으로 증가하였다는 결과를 보여주었다. 그러나 각 VFA의 조성변화를 시간적으로 분석한 결과를 보면, TMR 급여는 분리급여 방식과 다르게 사료급여 1.5시간 이후부터 propionate가 감소하고 acetate가 증가하는 방향으로 변화하여 TMR 급여가 왜 상대적으로 높은

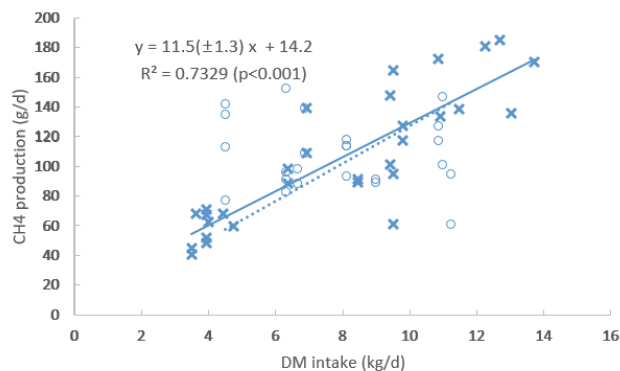


Fig. 1. The relationship between methane (CH₄) production and dry matter intake for Holstein steers. The solid line and cross (x) are data from Lee et al. (2016), Woo et al. (2017) and Bharanidharan et al. (2018). The dot line and open circle are data from the present experiments. The equation ($y = 11.5x + 14.2$) is generated by using data from the previous experiments.

메탄을 생산하는지를 설명하고 있다. 이들 연구는 또한 박테리아와 메탄생성균의 주요 우점균에서는 사료급여 방식 차이의 변화는 없지만 상대적으로 비율이 낮은 *Coprococcus*, *Succinicalsticum*, *Butyrivibrio* 그리고 *Succinivibrio* 등은 반추위 VFA 조성의 시간적 변화 그리고 메탄생성과의 상관관계를 보여주었다.

Fig. 1은 본 연구와 함께 육우를 이용하여 1일 메탄발생량을 보여준 국내 연구 논문(Lee et al., 2016; Woo et al., 2017; Bharanidharan et al., 2018)의 개체별 결과를 1일 사료섭취량과의 관계로 보여주고 있다. 본 연구의 결과는 유지수준 섭취 혹은 최대 섭취 수준에서 얻어진 것으로 건물섭취량 당 메탄발생량의 변이가 크게 나타나지만, 이전 논문들만의 건물섭취량은 최소 3.5kg에서 최대 13.7kg까지 분포하고 있고, 1일 메탄생성량과 매우 높은 상관관계를 보이고 있다. 육우에 적용할 수 있는 좀 더 신뢰도가 높은 회귀식을 얻기 위해서는 더 많은 연구 축적이 필요하지만, 현재까지의 연구결과로는 건물섭취량 1kg 증가시 11.5g의 메탄이 더 발생하는 것을 추정할 수 있다. 한우를 이용한 실험에서는 11.5g/kg DMI(Bharanidharan et al., 2018), 또는 이보다 높은 약 15g(Seol et al., 2012)과 약 21g(Seol et al., 2011)의 보고도 있지만, 외국의 자료 보다는 낮은 값이다. Charmley et al. (2016)은 호주의 젖소 220두, 비육우 813두의 결과를 메탄분석하고 20.7g의 기율기를 제시하였고, Bell et al. (2016)은 영국과 호주의 결과를 기초로 22.2g을 얻었다. 우리나라의 사양환경이 영국이나 호주보다 농후사료 급여량이 많은 점을 고려할 때, 기율기 값이 낮을 수 있고 이는 국가 고유 메탄배출계수도 외국의 결과보다 낮을 수 있다는

점을 시사한다고 사료된다. 아직 등록된 메탄배출계수 사례가 없지만 외국의 사례보다 낮은 계수를 심의할 경우 고려되어야 할 부분이다. TMR 급여의 장점으로 반추위 pH 저하 방지(Maekawa et al. 2002)와 대사성 질병 발생을 감소(Østergaard and Gröhn, 2000), 유생산(Gordon et al. 1995; Yan et al. 1998)과 충분한 조사료 섭취에 의한 유지방(Maekawa et al., 2002)의 증대 등을 이야기한다. 따라서 TMR 급여가 사료효율이 높고, 단위생산물 당 메탄발생량도 낮을 것이라 예상하는 의견이 있지만, 본 연구와 이전의 연구 결과를 종합해 보면 TMR 급여는 오히려 분리급여 보다 메탄발생이 높을 것으로 사료된다. 향후 그 원인을 명확히 밝히기 위한 연구들이 수행이 필요하다.

IV. 요약

TMR 급여와 분리급여가 반추위 메탄발생량 변화에 미치는 효과를 연구한 사례가 많지 않다. 본 실험은 1일 실험사료를 체중의 1.8%(실험 1) 그리고 2.4%(실험 2) 수준에서 급여 하면서 triplicated 2×2 Latin square design을 이용하여 실험을 수행하였다. 각 실험에는 6마리의 Holstein steer를 이용하였고 2개의 군으로 나누어 각각 TMR 급여 또는 분리급여를 하였다. 공시 사료의 농후사료와 조사료 비율은 73% 그리고 27%이었다. 두 실험 모두 사료급여 방식 간의 1일 메탄발생량 차이가 없었다. 현재까지 보고된 국내 연구와 본 연구에서 얻어진 개체 별 1일 건물섭취량과 1일 메탄발생량과의 관계를 분석한 결과, 메탄발생량 (g/d) = 11.5 (±1.3) × 건물섭취량 (kg/d) + 14.2, R² = 0.73, p < 0.001의 회귀식을 유도하였다.

V. 사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ011762012018)의 지원에 의해 이루어진 것임.

VI. REFERENCES

- AOAC. 2007. Official Method of Analysis of AOAC Int. 168th eds. Rev. 2. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Bell, M., Eckard, R., Moate, P.J. and Yan, T. 2016. Modelling the effect of diet composition on enteric methane emissions across sheep, beef cattle and dairy cows. *Animals*. 6:54. doi: 10.3390/ani6090054
- Bharanidharan, R., Arokiyaraj S., Kim, E.B., Lee, C.H., Woo, Y.W., Na,

- Y.J., Kim, D.I. and Kim, K.H. 2018. Ruminant methane emissions, metabolic, and microbial profile of Holstein steers fed forage and concentrate, separately or as a total mixed ration. *PLoS ONE*. 13:e0202446. doi: 10.1371/journal.pone.0202446
- Charmley, E., Williams, S.R.O., Moate, P.J., Hegarty, R.S., Herd, R.M., Oddy, V.H., Reyenga, P., Staunton, K.M., Anderson, A. and Hannah, M.C. 2016. A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Animal Production Science*. 56:169-180.
- Gordon, F.J., Patterson, D.C., Yan, T., Porter, M.G., Mayne, C.S. and Unsworth, E.F. 1995. The influence of genetic index for milk production on the response to complete diet feeding and the utilization of energy and nitrogen. *Animal Science*. 61:199-210.
- Greenhouse Gas Inventory and Research Center(GIR). 2014. Guideline for MRV (Measurement, Reporting and Verification) of national greenhouse gases statistics. Ministry of Environment.
- Heinrichs, A.J., Buckmaster, D.R. and Lammers, B.P. 1999. Processing, mixing, and particle size reduction of forages for dairy cattle. *Journal of Animal Science*. 77:180-186.
- Holter, J.B., Urban Jr, W.E., Hayes, H.H. and Davis, H.A. 1977. Utilization of diet components fed blended or separately to lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 60:1288-12936.
- Hoover, W.H., 1978. Digestion and absorption in the hindgut of ruminant. *Journal of Animal Science*. 46:1789-1799.
- Huhtanen, P., Ramin, M. and Cabezas-Garcia, E.H. 2016. Effects of ruminal digesta retention time on methane emissions: A modelling approach. *Animal Production Science*. 56:501-506.
- Huuskonen, A.K., Pesonen, M. and Joki-Tokola, E. 2014. Effects of supplementary concentrate level and separate or total mixed ration feeding on performance of growing dairy bulls. *Agricultural and Food Science*. 23:257-265.
- IPCC (Intergovernmental panel on climate change). 2006. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. vol. 4 Agriculture, Forestry and Other Land Use.
- Kononoff, P.J. and Heinrichs, A.J. 2003a. The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*. 86:1445-1457.
- Kononoff, P.J. and Heinrichs, A.J. 2003b. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*. 86:2438-2451.
- Lee, Y.S, Bharanidharan, R., Park, J.H., Jang, S.S., Yeo, J.M., Kim, W.Y. and Kim, K.H. 2016. Comparison of methane production of Holstein steers fed forage and concentrates separately or as a TMR. *Journal of Korean Society of Grassland and Forage Science*. 36:104-108.
- Maekawa, M., Beauchemin, K.A. and Christensen, D.A. 2002. Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 85:1165-1175.
- Maulfair, D.D., Fustini, M. and Heinrichs, A.J. 2011. Effect of varying total mixed ration particle size on rumen digesta and fecal particle size and digestibility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94:3527-3536.
- O'Neill, B.F., Deighton, M.H., O'Loughlin, B.M., Galvin, N., O'Donovan, M. and Lewis, E. 2012. The effects of supplementing grazing dairy cows with partial mixed ration on enteric methane emissions and milk production during mid to late lactation. *Journal of Dairy Science*. 95:6582-6590.
- O'Neill, B.F., Deighton, M.H., O'Loughlin, B.M., Mulligan, F.J., Boland, T.M., O'Donovan, M. and Lewis, E. 2011. Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered to spring-calving Holstein - Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk production. *Journal of Dairy Science*. 94:1941-1951.
- Okine, E.K., Mathison, G.W. and Hardin, R.T. 1989. Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *Journal of Animal Science*. 67:3388-3396.
- Østergaard, S. and Gröhn, Y.T. 2000. Concentrate feeding, dry matter intake, and metabolic disorders in Danish dairy cows. *Livestock Production Science*. 65:107-118.
- Seol, Y.J. Kim, K.H., Baek, Y.C., Lee, S.C., Ok, J.W., Lee, K.Y., Choi, C.W., Lee, S.S. and Oh, Y.K. 2012. Effect of grain sources on the ruminal methane production in Hanwoo steers. *Journal of Animal Science and Technology*. 54:15-22.
- Seol, Y.J., Kim, K.H., Baek, Y.C., Lee, S.C., Ok, J.W., Lee, K.Y., Hong, S.K., Park, K.H., Choi, C.W., Lee, S.S. and Oh, Y.K. 2011. Comparison of methane production in Korean native cattle (Hanwoo) fed different grain sources. *Journal of Animal Science and Technology*. 53:161-169.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.
- Woo, Y.W., Lee, C.H., Bharanidharan, R., Yeo, J.M., Lee, W.Y., Kim, D.H. and Kim, K.H. 2017. Effects of extruded linseed supplementation on methane production in Holstein steers. *Journal of Korean Society of Grassland and Forage Science*. 37:315-321.
- Yan, T., Patterson, D.C. and Gordon, F.J. 1998. The effect of two methods of feeding the concentrate supplement to dairy cows of high genetic merit. *Animal Science*. 67:395-403.

(Received : September 5, 2018 | Revised : September 14, 2018 | Accepted : September 17, 2018)